

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA EFICIÊNCIA DE
UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO DE BOVINOS NELORE
RECRIADOS EM PASTAGENS**

**Verônica Aparecida Costa Mota
Zootecnista**

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA EFICIÊNCIA DE
UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO DE BOVINOS NELORE
RECRIADOS EM PASTAGENS**

**Discente: Verônica Aparecida Costa Mota
Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rezende Siqueira**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em Zootecnia**

2019

M917e	Mota, Verônica Aparecida Costa Estratégias para aumento da eficiência de utilização do nitrogênio de bovinos nelore recriados em pastagens / Verônica Aparecida Costa Mota. -- Jaboticabal, 2019 75 p. : il., tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Gustavo Rezende Siqueira 1. nitrogênio. 2. proteína. 3. suplementação. 4. amônia. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO DE BOVINOS NELORE RECRIADOS EM PASTAGENS

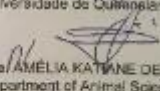
AUTORA: VERÔNICA APARECIDA COSTA MOTA

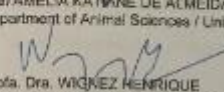
ORIENTADOR: GUSTAVO REZENDE SIQUEIRA

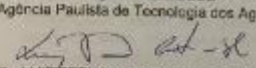
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Pesquisador Dr. GUSTAVO REZENDE SIQUEIRA
Departamento de Descentralização do Desenvolvimento / APTA - Colina/SP


Dr. DIOGO FLEURY AZEVEDO COSTA
Universidade de Queensland/Campus Gatton / Gatton/Austrália


Dra. AMÉLIA KATRINE DE ALMEIDA (Videocorrespondência)
Department of Animal Sciences / University of Florida (Gainesville, FL)


Profa. Dra. WAGNEZ HENRIQUE
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / APTA / São José do Rio Preto/SP


Dr. LUIZ FERNANDO COSTA E SILVA
Alitech do Brasil Agroindustrial Ltda / Maringá/PR

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Verônica Aparecida Costa Mota, nascida em 19 de novembro de 1988 na cidade de Manga, Minas Gerais, filha de José Luiz Oliveira Mota e Miraci Costa Mota. Em 2007 Ingressou no curso de bacharel em Zootecnia na Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes, Campus de Janaúba-MG, obtendo o título de Zootecnista em 2012, sob orientação da Professora Dra. Eleuza Clarete Junqueira de Sales. Em 2013 iniciou o mestrado em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, sob orientação do Professor Dr. Gustavo Rezende Siqueira, sendo bolsista pela CAPES e FAPESP (processo FAPESP número: 2014/05510-0). Em 2015 iniciou o doutorado em Zootecnia pela mesma instituição, sob orientação do Professor Dr. Gustavo Rezende Siqueira. No período de agosto de 2017 a agosto de 2018 integrou a equipe de pesquisa do Dr. Dennis Poppi na Universidade de Queensland em Gatton - Austrália (bolsa de Estudos e Pesquisa no Exterior – BEPE, Processo número: 2017/02704-6).

“O inverno nunca falha em se tornar primavera”

Nitiren Daishonin

A minha família, minha mãe Miraci que é a mulher mais guerreira, lutadora, bondosa, exemplo de mulher e minha melhor inspiração. Meu Pai, José Luiz pelo carinho e confiança. Aos meus irmãos, Luiz e Doka pelo amor, carinho e cumplicidade. Aos meus amores, Cecília e Lara por fazerem a minha vida mais alegre.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro à Deus, por me guiar e me fazer acreditar nos meus objetivos.

Agradeço à minha família por sempre acreditar e apoiar meu sucesso. Minha mãe Miraci, meus irmãos Luiz e Doka, cunhadas Nancy e Agda. Minha sobrinha Lara e minha afilhada Cecília pelo amor e carinho. Às minhas queridas Tias Neide, Magali, Niquinha e Nelsa e meus tios por todo apoio e torcida!

Aos funcionários da Escola Dona Maria e da UNIMONTES pelos ensinamentos. Minha orientadora Eleuza Junqueira por todo apoio.

Aos amigos Marisa, Suelen, Priscila, Tiago, Suleize, Valdo, Dona Cida do Instituto de Zootecnia pelo apoio e amizade. Minhas orientadoras Luciana e Alessandra, meu eterno agradecimento por toda ajuda, conversas e conselhos.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP- Jaboticabal, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Gustavo Rezende Siqueira, pela confiança, paciência, ensinamentos e exemplo de profissionalismo e dedicação.

Ao professor Dr. Flávio Dutra de Resende pelo apoio, ensinamentos, amizade, e bons conselhos.

A todos os professores do departamento de Zootecnia que contribuíram com meu aprendizado. Em especial ao Dr. Ricardo Reis por todos os ensinamentos, consideração e atenção com a minha formação acadêmica desde à minha entrada no mestrado.

Aos membros da banca de qualificação e defesa Luiz Fernando, Marcia Machado, Diogo Fleury, Ricardo Reis, Amélia Almeida e Wignez Henrique pela contribuição.

Aos funcionários da APTA-Colina pela ajuda e conversas diárias, e por sempre torcer pelo meu sucesso.

Aos amigos Hugo, Willian, Diego, Luiz Fernando, Felipe, Iorrano, Jessica Louca, Michelle, Jessica do leite, Max, Wilian, Layles, Kyone, Marcão, Luiz, Wendel pela ajuda e eternas conversas que fazem meus dias melhores.

Ao Toga e Regina pelo auxílio nas análises laboratoriais e amizade.

Aos velhos amigos/irmãos da hospedaria João Paraíba, Juca, João Marcos, Mau Mau e Berti, pelas amizades.

Às minhas browzinhas, Cleisy pelas conversas, ajuda, amizade. Laura e Lolla pela cumplicidade, ajuda e bondade. Val pela amizade e disposição em ajudar. Ivanna sempre ajudando com o coração enorme. Dan por me apoiar e aceitar fazer as mais loucas aventuras. Aline pela amizade e consultoria de moda. Naiara pelas boas conversas e ajuda. Bia pela amizade incondicional, cafés intermináveis e conselhos sábios. Paloma por compartilhar sua

família comigo e pelos momentos maravilhosos. Ju com toda sua meiguice pela amizade, risadas e ajuda. Leticia pela amizade e apoio. Renan com seu enorme coração de bondade e carinho. Amo todos vocês!

Aos integrantes do GEPROR pelo aprendizado. Tenho certeza que foram essenciais para a condução do experimento e principalmente para meu aprendizado.

Ao grupo de pesquisa na UQ, Dr. Dennis Poppi, Dr. Simon Quigley, Dra. Karen Harper, Dr. Stuart McLennan, Dr. Kieren Mccosker, Dr. Luis Silva, Dr. Diogo Fleury, David Innes, Dr. Tiago Alves pela amizade, ajuda, paciência e ensinamentos!

Aos amigos que fiz na Austrália que fizeram eu me sentir mais perto de casa Giovanna (Tião), Laís, Marcela, Halley, Carlos Ramirez, Chelo, Carlos Núñez, Bonna, Acep, Stefania, Peter, Alma, Malini, Vale, Jaz. Meu carinho em especial para Nora Ring pela ajuda, apoio e paciência.

Aos meus companheiros de casa Eden, Jessica, Jesse, Renée. Aos amigos e minha nova família em Katherine, Jack, Sharon, Nicky, Danni, Tamara, Benn, Ascheley.

Os anjos que me ajudaram e me deram força, Laila Cury, Pâmela, Mariana e Camila. Browzinhas não tenho palavras para agradecer vocês.

A Cargill e Alltech pela parceria e patrocínio e à Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio pela oportunidade de desenvolvimento desse projeto.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

E por meio da bolsa de doutorado (Processo: 2016/05131-4 - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e todo o suporte técnico e financeiro concedidos pela FAPESP.

A todos que de alguma forma participaram desse trabalho.

Muito OBRIGADA!

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1. <i>Metabolismo de proteína em ruminantes</i>	4
1.2. <i>Estratégia de suplementação proteica no período da seca</i>	5
1.3. <i>Estratégias de suplementação proteica no período das águas</i>	8
1.4. <i>Horário de suplementação e comportamento ingestivo de bovinos em pastejo</i>	9
1.5. <i>Aditivos suplementares</i>	10
2. REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO 2: COMPORTAMENTO INGESTIVO, DESEMPENHO E METABOLISMO DE TOURINHOS NELORE RECRIADOS EM PASTO, SUPLEMENTADOS COM FONTES DE NITROGÊNIO NÃO PROTEICO DURANTE A ESTAÇÃO SECA EM DIFERENTES HORÁRIOS DE SUPLEMENTAÇÃO.....	19
1. INTRODUÇÃO	21
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3. RESULTADOS.....	31
4. DISCUSSÃO	44
5. CONCLUSÃO	46
6. REFERÊNCIAS	47
CAPÍTULO 3: INCLUSÃO DE FONTE PROTÉICA E ÓLEO ESSENCIAL NO DESEMPENHO, PARÂMETROS RUMINAIS E SANGUÍNEOS DE TOURINHOS NELRE EM PASTO DE CAPIM MARANDU.....	533
1. INTRODUÇÃO	54
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	57
3. RESULTADOS.....	65
4. DISCUSSÃO	70
5. CONCLUSÃO	71
6. REFERÊNCIAS	72



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Adição de ureia protegida (Optigen®) na alimentação de bovinos manejados em pastagens com diferentes horários de suplementação no período da seca", protocolo nº 15471/15, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gustavo Rezende Siqueira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL - SP, em reunião ordinária de 14 de setembro de 2015.

Vigência do Projeto	21/09/2015 a 01/12/2015
Espécie / Linhagem	Bos indicus / Nelore
Nº de animais	108 para desempenho e 08 animais fistulados para parâmetros ruminais
Peso / Idade	200 Kg (peso médio) / 12 a 36 meses
Sexo	Machos
Origem	APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios

Jaboticabal, 14 de setembro de 2015.


Profª Drª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

ESTRATÉGIAS PARA AUMENTO DA EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DO NITROGÊNIO DE BOVINOS NELORE RECRIADOS EM PASTAGENS

RESUMO - Dois experimentos foram conduzidos para avaliar estratégias nutricionais e de manejo que permitam melhorar a eficiência de utilização do nitrogênio e consequentemente elevar o desempenho de bovinos suplementados em pastagens. Os experimentos foram conduzidos na APTA no Polo Regional Alta Mogiana, Colina/SP. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial 2×2 para as avaliações de desempenho e comportamento ingestivo no experimento 1 (exp. 1) e desempenho no experimento 2 (exp. 2), sendo: exp. 1 (fase de seca): duas fontes de nitrogênio não proteico (ureia e ureia de liberação controlada [Optigen®] e dois horários de suplementação [7:00 h (manhã) e 13:00 h (tarde)] e exp. 2 (fase de águas) fonte de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®] com ou sem óleo essencial [Cinnagar®]. As avaliações foram realizadas em 20 piquetes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu de 3 ha e 6 animais cada. As áreas e animais foram os mesmos nos dois experimentos. O método de pastejo foi o de lotação contínua com taxa de lotação variável. No exp. 1 a duração foi de 98 dias, 14 dias de adaptação e três períodos de 28 dias e no exp. 2 foi de 133 dias, 21 dias de adaptação e quatro períodos de 28 dias. Os animais foram pesados com jejum de 16 horas de sólidos e líquidos a cada 28 dias para mensuração do desempenho. As variáveis avaliadas no comportamento ingestivo no exp. 1 foram: o tempo de pastejo e tempo de cocho diurno (6:00 as 17:50 h), noturno (18:00 as 05:50 h) e total (6:00 as 5:50 h). As observações instantâneas foram executadas por pessoas treinadas durante 24 horas com intervalo de frequência de 10 minutos, correspondendo a uma coleta de comportamento ingestivo por período experimental. Os parâmetros ruminais e sanguíneos foram avaliados em 12 animais canulados no rúmen. Foram utilizados 4 piquetes, sendo três quadrados latinos simultâneos (3 quadrados latinos 4×4). Cada período teve duração de 21 dias. Amostras de sangue foram coletadas, em cada período, no tempo zero (antes da suplementação) e 2, 3 e 6 horas após a suplementação. As concentrações séricas de glicose, proteína, ureia e creatinina foram mensuradas. O fluido ruminal foi coletado em dois dias consecutivos no exp. 1 onde no dia 1 foram coletados líquidos às 0, 6, 12 e 18 horas após a suplementação e 3, 9, 15 e 21 horas no dia 2 para coleta de fluido ruminal. As análises de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e pH foram utilizadas as amostras nos horários de 0, 6, 12 e 18 horas após a suplementação e do nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) às 0, 3, 6, 9, 12, 15 18 e 21 horas após suplementação. No exp. 2 as coletas ruminais foram em um dia às 0, 6, 12 e 18 horas após a suplementação. As mensurações de pH foram realizadas imediatamente após as coletas. As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \leq P \leq 0,10$. No exp. 1 não houve influência dos tratamentos e suas interações sobre o ganho médio diário (GMD) ($P > 0,45$) e peso corporal e final ($P > 0,39$). O GMD médio foi de 0,623 kg. O comportamento ingestivo foi influenciado pelos períodos experimentais. O tempo de pastejo foi reduzido em 92 minutos ($P < 0,01$) no terceiro período comparado aos dois primeiros. Os parâmetros ruminais no horário 6 após a suplementação, os valores de pH ruminal foram menores e AGCC total maiores dos animais suplementados no período da tarde ($P < 0,03$). No exp. 2 não houve

influência dos tratamentos e suas interações no GMD ($P > 0,45$) e no peso corporal final ($P > 0,22$). O GMD em todos os tratamentos foi de 0,921 kg. Animais suplementados com Cinnagar® apresentaram concentração sérica de nitrogênio ureico no sangue 22% maior em relação aos animais não suplementados ($P = 0,03$). A maior concentração de glicose de 3,69 mmol/L foi observada nos tratamentos com SoyPass® e presença de óleo essencial (Cinnagar®), sendo que o farelo de soja apresentou concentração intermediária entre os tratamentos ($P < 0,01$). A suplementação com fontes de NNP e diferentes horários de suplementação no período seco e fontes de proteína verdadeira e óleo essencial nas águas não afetam os desempenhos de bovinos Nelore em pastagens. Porém os parâmetros sanguíneos e ruminais são alterados.

Palavras-chave: comportamento ingestivo, nitrogênio amoniacal, proteína, suplementação

STRATEGIES FOR INCREASING THE EFFICIENCY OF NITROGEN USE IN THE GROWING NELLORE CATTLE IN PASTURE

ABSTRACT - Two experiments were conducted to evaluate nutritional and management strategies to improve the nitrogen efficiency utilization and consequently to increase the performance of supplemented cattle in pasture. The experiments were conducted at APTA - Colina / SP experimental station. The treatments were arranged in a 2×2 factorial scheme for the performance and ingestive behavior evaluations in experiment 1 (Exp. 1) and performance in experiment 2 (Exp. 2). Exp. 1 (dry season): two sources of non-protein nitrogen (urea and encapsulated urea [Optigen®] and two supplementation hours [7:00 a.m. and 1:00 p.m.]) and Exp. 2 (rainy season): soybean meal or soybean meal treated [Soypass BR®] with or without plant extract (Cinnagar®). The experiments were carried out in 20 paddocks of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu of 3 hectares with 6 animals each one. The experiment lasted 98 days, 14 days of adaptation, and three periods of 28 days. The animals were weighed with fasting of solids and liquids for 16 hours every 28 days. The Exp. 2 lasted 133 days, 21 days of adaptation and four periods of 28 days. In Exp. 1 the ingestive behavior was: grazing time and daytime trough (6:00 a.m. to 5:50 p.m.), at night (6:00 p.m. to 5:50 a.m.) and total. The instantaneous observations were performed by trained people during 24 hours with frequency interval of 10 minutes, corresponding to a collection of ingestive behavior per experimental period. Ruminal and blood parameters were evaluated in 12 rumen cannulated animals. Four paddocks were used, three simultaneous Latin squares 4×4 . Each period had a duration of 21 days where, from day 1 to 10, the animals were adapted to the treatments. Blood samples were collected in each period at time zero (before supplementation) and 2, 3 and 6 hours after supplementation. Glucose, protein, urea and creatinine concentrations were measured in the blood. The ruminal fluid was collected on two consecutive days for Exp. 1 where on day 1, liquids were collected at 0, 6, 12 and 18 hours after supplementation and 3, 9, 15 and 21 hours at day 2. Volatily fatty acid (VFA) and pH analyzes were used only at the time of 0, 6, 12 and 18 hours after supplementation and for ammoniacal nitrogen (N-NH_3) at 0, 3, 6, 9, 12, 15 and 21 hours after supplementation. In Exp. 2, ruminal collections were only in one day, at 0, 6, 12 and 18 hours after supplementation. The pH measurements were performed immediately after collection. The average were compared by the t-test and the differences considered from the $P < 0.05$ and trends were discussed when $0.05 \geq P \leq 0.10$. In the Exp. 1, there is not interaction among factors for average daily gain (ADG) and body weight (BW). The factors did not influence ADG ($P > 0.45$) and initial and final body weight ($P > 0.39$). The ADG was 0.623 kg. Ingestive behavior was influenced only by the experimental periods. The grazing time was reduced in 92 minutes ($P < 0.01$) in the third period compared to the first and second one. For ruminal parameters, at time 6 after supplementation, ruminal pH values were lower and total VFA greater than supplemented animals at 1:00 p.m. ($P < 0.03$). There was effect of Optigen® supplementation in isovalerate concentrations and it was possible to observe trends for valerate concentration superiority ($P = 0.02$ and $P = 0.07$, respectively). In Exp. 2, there was no influence of factors and their interactions on ADG ($P > 0.45$) and final body weight ($P > 0.22$). The ADG for all treatments was 0.921 kg. Animals

supplemented with Cinnagar® showed 22% greater urea nitrogen concentration in blood compared to non-supplemented animals ($P = 0.03$). The highest concentration of glucose of 3.69 mmol/L was observed in the treatments with SoyPass® and presence of essential oil (Cinnagar®), and the soybean meal showed intermediate concentration between the treatments ($P < 0.01$). Supplementation with NNP sources and different times of dry season supplementation and sources of true protein and essential oil in the waters do not affect Nellore cattle performance in pastures. However, blood and ruminal parameters affect.

Keywords: ingestive behavior, protein, ruminal ammonia nitrogen, soybean, supplementation

CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO GERAL

A quantidade e qualidade das forrageiras consumidas pelos bovinos em pastejo sofrem alterações ao longo do ano. Regiões de clima tropical se caracterizam pela distribuição desuniforme das chuvas, resultando em alterações na oferta e na qualidade de forragem nas pastagens. Dessa forma, existe uma ampla variabilidade na composição química das gramíneas tropicais durante o ano, e como consequência, oscilações no desempenho dos animais (Roth et al., 2013). Uma das formas de se complementar o eventual déficit de proteína e energia que os pastos apresentam durante algumas fases do ano é por intermédio da suplementação (Reis et al., 1997; Moretti et al., 2013; Roth et al., 2013; Poppi et al., 2018).

Quando são suplementados, o desempenho de animais em pastejo podem ser alterados por vários fatores, pois existem efeitos associativos (substitutivo, aditivo e combinado) entre a quantidade e tipo do suplemento e o consumo de pasto. Segundo Moore (1980), o efeito substitutivo ocorre quando há manutenção do nível de consumo de energia digestível devido ao aumento do consumo de suplemento, mas em contrapartida ocorre decréscimo na ingestão de pasto; o efeito aditivo está relacionado ao aumento do consumo de energia digestível através da elevação do consumo de concentrado, sem diminuir o consumo de forragem; e por fim, o efeito combinado é observado quando existe aumento do consumo de energia digestível devido ao suplemento, mas também ocorre diminuição na ingestão de pasto, de maneira menos acentuada do que aquela observada no efeito substitutivo.

Na suplementação à pasto, o objetivo é a otimização do consumo de pasto, por meio do aumento na taxa de degradação da fibra. Depois da identificação e correção dos nutrientes do pasto em menor concentração, a introdução de recursos suplementares poderá ser feita, visando suprir diretamente as exigências dos bovinos (Detmann et al., 2010).

Muitas vezes, os animais na fase de recria são negligenciados e é nesta fase que ocorre maior deposição de tecido muscular. À medida que a idade do animal aumenta, a deposição de tecidos é alterada. A deposição de tecido adiposo é menos eficiente

por unidade de massa do que a de tecido muscular (Owens et al., 1995). Com a mesma quantidade de energia disponível (10 kcal), ocorre deposição de 4 vezes mais tecido muscular (2,8 g) do que adiposo (0,7 g). A síntese de tecido muscular carrega água, o que promove maior aumento em unidade de massa em relação ao tecido adiposo.

O ganho de peso dos animais na recria é muito importante, pois isto refletirá no peso corporal (PC) inicial da fase de terminação. Roth et al. (2013) verificaram maiores PC iniciais na terminação em bovinos que tiveram maior nível nutricional na recria. Casagrande et al. (2013) também verificaram PC inicial maior na terminação em animais que na recria receberam suplemento quando comparados ao uso de apenas sal mineral. De acordo com estes autores, o maior ganho de peso refletiu em melhorias nas características de carcaça, principalmente na área de olho de lombo, medida por meio da ultrassonografia, ao final da recria.

A suplementação proteica é uma estratégia que permite corrigir dietas desbalanceadas, melhorando o ganho de peso, e por consequência diminuindo os ciclos produtivos da pecuária de corte (Peruchena, 1999, Casagrande et al., 2013, Roth et al., 2013). O suprimento de quantidades adequadas de proteína degradada no rúmen (PDR) e proteína não degradada no rúmen (PNDR) é necessário para atender a demanda de nitrogênio para a síntese de proteína microbiana e a exigência do animal de proteína metabolizável. Proteína metabolizável é a proteína digerida e absorvida no intestino, tendo origem na PNDR oriunda dos alimentos, na proteína microbiana e na proteína endógena que chega ao intestino (NRC, 2000).

No sistema de produção, muitas vezes, a utilização de proteína da dieta é o fator limitante do desempenho em bovinos de corte, sendo assim a sua utilização deve ser de forma eficiente, pois a proteína constitui um nutriente de alto custo nas dietas (Amaral et al., 2018). A utilização de forma eficiente da suplementação proteica, além de benefícios no desempenho do animal e consequentemente melhoria no ciclo de produção, pode também diminuir os impactos negativos no meio ambiente. A ureia utilizada como fonte de nitrogênio não proteico (NNP) no rúmen são rapidamente hidrolisadas por ureases microbianas, ocasionando a sua rápida liberação de amônia (N-NH_3) (Kozloski, 2011). As principais fontes de nitrogênio para os microrganismos do rúmen sintetizarem proteína microbiana são a amônia e peptídeos liberados no

rúmen. A eficiência dos microrganismos ruminais em utilizar o N-NH_3 depende, entre outros fatores, da disponibilidade de energia no rúmen (Santos e Pedroso, 2011).

Quando a degradação da proteína excede a taxa de assimilação dos aminoácidos e da amônia ocorre aumento na concentração de amônia no rúmen (Kozloski, 2011; Batista et al., 2017). A amônia então pode ser removida do ambiente ruminal, principalmente via difusão, podendo posteriormente retornar ao rúmen (reciclagem) ou ser perdida como ureia através da urina, fezes e leite (Russel et al., 1992). Portanto, em situações em que não ocorre sincronismo ruminal entre a liberação de N-NH_3 e a disponibilidade de energia ocorre uso ineficiente do nitrogênio.

Nos últimos anos, ocorreu um aumento na busca por fontes de ureia de liberação controlada no rúmen que mantenham os níveis de nitrogênio ruminal constantes durante o dia. O uso destas fontes pode ser uma forma de aumentar o sincronismo das taxas de degradação de carboidratos e proteínas para maximizar a eficiência microbiana. O objetivo desse produto é reduzir a solubilidade no rúmen e permitir a liberação controlada do nitrogênio ao longo do dia (Harrison et al., 2006; Carareto, 2007; Simeone et al., 2009). Outra forma de tentar aumentar o sincronismo na utilização de N-NH_3 e energia pelos microrganismos é o horário de fornecimento da suplementação aos animais. Devido às variações diurnas no ambiente ruminal provocada pelo padrão de pastejo dos animais, o horário de suplementação pode ser usado de forma estratégica, onde ocorra um maior sincronismo entre a taxa de liberação de energia através da fermentação do pasto e a de disponibilidade de amônia no rúmen.

Quando as concentrações de proteína não são limitantes na dieta, deve-se minimizar relativamente sua degradação ruminal e parte da proteína vai ser digerida no intestino delgado (PNDR), assim evitando possíveis perdas de aminoácidos no rúmen, decorrentes da fermentação microbiana. Para isso, procura-se fornecer alimentos com PNDR elevado (Atkinson et al. 2007; Mezzomo et al., 2016). A suplementação com PNDR aumenta diretamente o suprimento de proteína metabolizável, possibilitando melhorias no desempenho (Poppi e Mclennan, 1995).

Para aumentar a disponibilidade de PNDR uma forma seria proteger parte da proteína dietética para que não ocorra degradação ruminal (Mezzomo et al., 2016; Malacco, 2016; França, 2017). Outra forma seria uso de aditivos suplementares e óleo

essencial que são compostos secundários de plantas, no qual tem ação antimicrobiana, reduzindo a desaminação no rúmen, (Van Soest, 1994).

1.1. *Metabolismo de proteína em ruminantes*

Em animais ruminantes, as proteínas da dieta são compostas por uma fração degradável no rúmen e uma fração não degradável no rúmen. No rúmen, as proteínas são hidrolisadas a peptídeos e aminoácidos pela protease microbiana ruminal, possibilitando estes últimos ser incorporados pela microbiota para síntese de proteína microbiana, ou então desaminados, dando origem ao nitrogênio amoniacal (Mcdonald, 1995). Já a ureia é um composto nitrogenado de origem não proteica que pode ser incorporada na dieta de ruminantes, mas que também chega ao rúmen por reciclagem via saliva ou diretamente do sangue via transpitelial. Este composto é solubilizado e degradado pela urease microbiana à nitrogênio amoniacal (Kozloski, 2011; Mcdonald, 1995).

Sistemas multienzimáticos associados à membrana celular bacteriana fazem a degradação das proteínas no rúmen. Inicialmente as proteínas são hidrolisadas em oligopeptídeos, que são hidrolisados por aminopeptidases, liberando dipeptídeos e estes, por sua vez, são hidrolisados por dipeptidases liberando os aminoácidos (Kozloski, 2011, Bartley et al., 1976). Após a degradação extracelular, os peptídeos e aminoácidos resultantes são prontamente captados pelas células bacterianas ruminais, de modo que suas concentrações no fluido ruminal normalmente são muito baixas (McDonald, 1995). Os aminoácidos são desaminados, liberando amônia e α -cetoácidos, ou utilizados pelas bactérias para a síntese de suas proteínas. Os α -cetoácidos, por sua vez, são utilizados como fonte de energia e convertidos em ácidos graxos de cadeia curta (Kozloski, 2011).

Os produtos da degradação formados no rúmen, em particular a amônia, são usados por microrganismos na presença de fontes de energia (carboidratos) para a síntese de proteína e outros constituintes celulares dos microrganismos, como ácidos nucléicos (Kozloski, 2011). A amônia também pode ser absorvida na corrente sanguínea e transformada em ureia no fígado, sendo excretada em maior parte na urina, ou então pode retornar ao rúmen pela reciclagem na saliva ou até mesmo pela

corrente sanguínea (Kozloski, 2011, Batista et al., 2017). Há uma forte correlação entre o nível de proteína degradada proveniente da dieta e a síntese de proteína microbiana (Hoover e Stokes, 1991). A proteína microbiana pode suprir de 50 a 100% das exigências de proteína metabolizável para bovinos de corte, sendo considerada fonte de qualidade, devido a sua alta digestibilidade, em torno de 80%, e ao seu perfil em aminoácidos (NRC, 2000).

A concentração de amônia no rúmen é importante para o adequado funcionamento deste ecossistema, verificando-se na literatura, a concentração é bem variável, Valadares Filho e Pina (2011) definiram 10 mg/dL de conteúdo ruminal e Detmann et al. (2009) de 8 mg/dL para degradação da fibra no rúmen, contudo esses não devem ser considerados como um número fixo, porque a capacidade das bactérias sintetizarem proteína e a utilização de amônia depende da taxa de fermentação de carboidratos (Van Soest, 1994). A absorção da amônia está diretamente relacionada com a sua concentração no rúmen e aumenta com o aumento do pH do fluido ruminal, com isso a sua absorção ocorre por difusão passiva da sua forma dissociada (Kozloski, 2011, Fernandez et al., 1990).

Os compostos nitrogenados que chegam ao abomaso e intestino delgado são de origem das proteínas não degradadas no rúmen, compostos nitrogenados microbianos, onde destes em torno de 80% são representados por proteína verdadeira e o restante bases nitrogenadas. Também em torno de 5% de nitrogênio amoniacal e nitrogênio de origem endógena (Kozloski, 2011).

1.2. Estratégia de suplementação proteica no período da seca

No período seco do ano, as forragens tropicais são caracterizadas pela baixa qualidade nutricional, com aumento na lignificação, queda na digestibilidade da fibra e baixo teor de proteína bruta (Reis et al., 1997; Detmann et al., 2004, Roth et al., 2013). A proteína normalmente se encontra em concentrações inferiores à necessidade dos microrganismos ruminais, para que estes apresentem plena capacidade de degradação dos carboidratos fibrosos (Paulino et al., 2008; Lazzarini et al., 2009; Sampaio et al., 2009) para utilização ótima do pasto.

Sendo assim, a suplementação na época seca deve ser capaz de minimizar as deficiências de compostos nitrogenados, que pode implicar em deficiência tanto para o animal como deficiência de precursores nitrogenados para crescimento de microrganismos responsáveis pela extração de energia oriunda da fibra da forragem de baixa qualidade (Detmann et al., 2009).

Bactérias celulolíticas usam praticamente nitrogênio amoniacal como fonte de nitrogênio e sua capacidade fermentativa é consideravelmente menor na ausência de N-NH_3 , uma vez que sua capacidade de usar nitrogênio na forma de aminoácidos e peptídeos é bastante reduzida (Kozloski, 2011, Russel et al., 1992). As bactérias amilolíticas crescem mais rapidamente utilizando cerca de 60% de peptídeos e aminoácidos e 34 de nitrogênio amoniacal como fontes de nitrogênio para seu crescimento (Russell et al., 1992). Além disso, as bactérias que degradam amido, pectina ou açúcares são capazes de continuar a degradação do substrato mesmo quando o nitrogênio é limitante (Tedeschi et al., 2000). Para esses autores, as bactérias que degradam fibra não são capazes de degradar substrato quando o nitrogênio é limitante.

A ureia é tradicionalmente uma das principais fontes de NNP fornecida em suplementos para ruminantes em pastejo. Apresenta teor médio de nitrogênio variando de 42 a 46,7%, equivalente a 262 a 292% de proteína bruta (PB), sendo formada, na sua totalidade, por NNP; é extremamente solúvel em água e no rúmen, sendo rapidamente degradada a amônia (Russell et al., 1992). A amônia no rúmen também pode ser oriunda da hidrólise da ureia sanguínea e salivar e por desaminação de aminoácidos no interior das células microbianas (Wallace, 1996).

Para uma ótima atividade microbiana, a eficiência de digestão dos alimentos no rúmen e a capacidade de transformação dos nutrientes em proteína de alta qualidade ocorrem em função da disponibilidade conjunta de energia e nitrogênio no rúmen (Russell et al., 1992; Firkins, 1996). Os microrganismos são dependentes do ATP (adenosina tri fosfato), que é a energia proveniente da fermentação dos carboidratos, para que ocorra a biossíntese de proteína microbiana. Peptídeos e aminoácidos também podem ser utilizados como fontes de energia pelos microrganismos no rúmen em situações de escassez de energia oriunda de carboidratos ou excesso de proteína, assim ocorrendo acúmulo de nitrogênio

amoniaco no meio (Russell et al., 1992). Porém, a associação entre a composição química e o potencial de degradação dos alimentos determina a eficiência de crescimento microbiano e produção de ácidos graxos de cadeia curta, principais fontes de proteína e energia para bovinos, respectivamente (Church, 1990). Sendo assim, a concentração de N-NH_3 é dependente da degradabilidade da fonte proteica, disponibilidade de carboidratos e do equilíbrio entre sua produção e utilização pelos microrganismos (Satter e Slyter, 1974; Nocek e Russell, 1988).

Quando não há um sincronismo na degradação de proteína e energia, a produção microbiana será reduzida e a degradação do alimento diminuirá (Russell et al., 1992). Quando não utilizado, o excesso de amônia no rúmen pode passar rapidamente para o sangue por difusão e alcançar o fígado. A sobrecarga de N-amoniaco no fígado ocasiona um gasto maior de energia para produção da ureia, elevando os níveis de nitrogênio ureico no plasma sanguíneo, na saliva e na urina (Newbold e Rust, 1992; Baker et al., 1995; Gabarra, 2001). Este processo metabólico é indesejável, pois exige o uso de energia que poderia ser utilizada para a produção microbiana, uma vez que a síntese de uma molécula de ureia apresenta balanço negativo de um ATP.

Diante do exposto, têm pontos a serem considerados quanto à suplementação de proteína na época da seca. O fornecimento de suplemento com ureia para bovinos em pastagens no período seco do ano tem um agravante, pois o pico de liberação de amônia no rúmen ocorre cerca de 1 a 2 horas após sua ingestão, mas, nessa época, as pastagens apresentam valores elevados de carboidratos fibrosos que apresentam taxa de degradação ruminal inferior a 10%/h e baixo conteúdo de carboidratos de rápida degradação (Santos e Pedroso 2011). Consequentemente, a síntese de proteína microbiana e o aproveitamento do nitrogênio amoniaco tornam-se comprometidos, devido à baixa disponibilidade de esqueletos de carbono em sincronia com a degradação da proteína no rúmen (Van Soest, 1994). Uma alternativa nesse caso seria a utilização de ureia de liberação controlada, pois o nitrogênio possui liberação mais lenta no rúmen, assegurando uma utilização mais efetiva (Tedeschi et al., 2002). Este mecanismo pode melhorar o desempenho animal, possibilitando melhorar o sincronismo de nutrientes no rúmen (Marchesin et al., 2006) e, consequentemente, o ganho destes animais. Castañeda-Serrano et al. (2013),

avaliando o uso de ureia de liberação controlada em substituição à ureia convencional na dieta de bovinos de corte, observaram melhora no fluxo omasal da matéria seca, matéria orgânica, proteína e digestibilidade ruminal aparente da FDN, sem efeito no consumo e digestibilidade total de nutrientes e síntese de proteína microbiana.

Segundo Akay et al. (2004), a ureia de liberação controlada confere tempo de degradação da ureia de até 16 h, sendo a sua solubilização lenta e constante. Os autores avaliaram a utilização *in situ* do nitrogênio da ureia de liberação controlada comparando com a ureia comum e com a soja em grãos. A degradação *in situ* da ureia de liberação controlada seguiu padrão mais semelhante ao da soja do que ao da ureia. A ureia de liberação controlada teve velocidade intermediária de utilização durante as primeiras 16 h de fermentação ruminal, seguida de velocidade mais lenta de utilização de 16 a 30 h. Esse padrão de utilização em duas fases assemelhou-se ao observado para a soja.

Ureia de liberação controlada diminuiu a concentração ruminal de amônia e não alterou as concentrações ruminais de ácidos graxos de cadeia curta em bovinos de corte comparados com os do grupo controle (8,9 vs. 14,1 mM respectivamente), quando receberam dietas contendo 85% de silagem de milho e diferentes fontes de NNP (Taylor-Edwards et al., 2008).

1.3. Estratégias de suplementação proteica no período das águas

No período das águas, a forragem *Brachiaria brizantha* cv. Marandu apresenta alta produtividade e valor nutritivo, apresentando teores de proteína bruta variando entre 9% a 14% (Gerdes et al., 2000; Moretti et al., 2013; Barbero et al., 2017; Costa et al., 2018) na base da matéria seca. Nessa condição, os microrganismos ruminais podem apresentar plena capacidade de degradação dos substratos fibrosos da forragem basal (Sampaio et al., 2009). Sendo assim, uma estratégia seria o fornecimento de fontes de PNDR, com o objetivo de aumento diretamente no suprimento de proteína metabolizável, possibilitando melhorias no desempenho dos animais (Poppi e McLennan, 1995).

A suplementação com proteína de baixa degradação ruminal permite a absorção de aminoácidos no intestino (Mezzomo et al., 2016), resultando em efeito

positivo sobre o desempenho animal. Contudo, o conhecimento dos efeitos do aumento no suprimento de PNDR e a retenção de nitrogênio no organismo animal ainda são escassos em condições tropicais. Entretanto, a eficiência de uso da proteína metabolizável para ganho pode variar em função do peso corporal e do grupo genético dos animais, do perfil de aminoácidos da proteína metabolizável, entre outros fatores (Valadares Filho et al., 2016).

O aumento na disponibilidade de compostos nitrogenados via suplementação de PNDR pode acarretar em melhor equilíbrio na utilização metabólica dos compostos nitrogenados, ampliando a proporção dos que são utilizados para fins anabólicos. Detmann et al. (2014) indicaram que, quando ocorre aumento do suprimento de compostos nitrogenados via suplementação, observa-se aumento no anabolismo muscular e redução do catabolismo de proteínas miofibrilares, sem necessariamente estar associado a alterações na produção microbiana.

1.4. Horário de suplementação e comportamento ingestivo de bovinos em pastejo

A composição da dieta, a quantidade e a frequência com que é oferecida, podem acarretar em mudanças comportamentais em relação às outras atividades que os animais desenvolvem dentro do piquete, sendo o tempo de pastejo uma das mais importantes (Krysl e Hess, 1993). Trabalhos mostram redução do tempo total de pastejo quando os animais recebem suplementação variando de 0,3 a 1,5% do PC (Adams, 1985; Krysl e Hess, 1993; Pardo, 2003). Bovinos possuem dois horários de pico de pastejo, um no início da manhã e outro no final da tarde, onde as temperaturas normalmente são mais amenas (Roth et al., 2013).

Os animais possuem variações diurnas no ambiente ruminal, provocada pelo padrão de pastejo (Cosgrove 1997), devido a esse comportamento, a eficácia dos suplementos pode ser influenciada pela hora da suplementação pelo de efeitos sobre a digestão da fibra e outras variáveis associadas com a fermentação ruminal. Sendo assim, o horário do fornecimento dos suplementos pode trazer benefícios ao consumo de forragem, reduzindo o impacto no tempo de pastejo desde que não afete o consumo de pasto e, conseqüentemente, na eficiência de utilização da fibra. O

fornecimento de suplementos no início da manhã, onde ocorre o primeiro pico de pastejo pode proporcionar maior efeito de substituição, reduzindo o consumo de pasto (Adams, 1985).

Barton et al. (1992) mostraram que animais suplementados com fonte de proteína (farelo de algodão), 0,25% do peso corporal, em horários de 6 e 12 horas, diminuiriam 1,5 horas no pastejo em relação aos não suplementados. Porém, os animais não suplementados perderam peso nas estações de baixa disponibilidade de forragem. Brandyberry et al. (1991) observaram que os animais gastam mais tempo pastejando no meio da manhã entre 6:00 e 9:00 horas e no final da tarde entre 15:00 e 18:00 horas.

Outro ponto a ser considerado é como esses animais consomem maior quantidade de forragem no início da manhã, o pico de fermentação ocorrerá no início da tarde (8 a 12 horas após a primeira alimentação) (Fernandes et al., 2016). Portanto pressupõe-se que a suplementação no início da tarde, principalmente rica em NNP, deve ser melhor aproveitada pelo animal. Já quando o uso de suplemento no período da manhã é necessário, por motivos de manejo, a ureia de liberação controlada pode ter um efeito positivo na utilização de nitrogênio. Trabalhos publicados utilizando ureia de liberação controlada mostram níveis de amônia mais constantes ao longo do dia (Ferreira et al., 2005; Huntington et al., 2006). Esse mecanismo pode proporcionar melhor sincronismo entre nitrogênio e energia para os microrganismos ruminais na época da seca.

1.5. Aditivos suplementares

Na busca por ferramentas que melhorem a eficiência de utilização da dieta e o desempenho animal, os aditivos zootécnicos têm sido utilizados com o objetivo de modificar o padrão fermentativo no rúmen e elevar a eficiência na digestão e absorção dos nutrientes. No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento define aditivo como substância intencionalmente adicionada ao alimento com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo.

Os óleos essenciais são aditivos que contêm compostos secundários de plantas que conferem proteção contra predadores, além de odor e cor. Os terpenoídes e fenilpropanóides são os principais grupos químicos que compõem óleos essenciais. Alguns dos compostos já estudados são: alicina (alho – *Allium sativum*), timol (orégano – *Origanum vulgare* e tomilho – *Thymus vulgaris*), cinamaldeído (canela-*Cinnamomum cassia*) (Marina e Medeiros, 2015).

Os óleos essenciais têm ação antimicrobiana, reduzindo a desaminação de proteínas no rúmen, onde os produtos peptídeos e aminoácidos gerados pela hidrólise da proteína dietética podem liberar N-NH₃ no rúmen, assim como ocorre com a ureia endógena e dietética (Van Soest, 1994). Assim, os óleos essenciais são utilizados com o objetivo de aumentar a disponibilidade de PNDR.

Em estudo avaliando óleos essenciais com diferentes concentrações, Busquet et al. (2006) observaram que o composto cinamaldeído, reduziu a concentração de amônia e aumentou a proporção molar de propionato em comparação ao controle. No mesmo ensaio *in vitro*, óleo de alho aumentou as proporções molares de propionato e butirato e reduziu a proporção molar de acetato, comparado com o controle.

A disponibilidade de aminoácidos para absorção intestinal é fundamental para garantir a produtividade dos ruminantes, principalmente na fase de crescimento, onde há uma maior demanda por proteína metabolizável. Contudo, devido às características simbióticas destes animais, a existência de um processo fermentativo ruminal dificulta o aporte intestinal de proteína (Van Soest, 1994). Portanto, a utilização de técnicas que visem o aumento da disponibilidade de aminoácidos a serem absorvidos no intestino, quer seja pela suplementação com uma fonte de PNDR, ou pela alteração do processo de desaminação ruminal, pode ser uma importante ferramenta para aumento da produção de bovinos em pastagens na época das águas.

Com isso, objetivou-se com esse trabalho determinar qual a melhor estratégia de manejo que permita aumentar o uso eficiente do nitrogênio em animais recriados em pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu na estação de seca e águas.

3. REFERÊNCIAS

Adams DC (1985) Effect of time of supplementation on performance, forage intake and grazing behavior of yearling beef steers grazing Russian wildryegrass in the fall. **Journal of Animal Science** 61:1037-1042.

Akay V, tikofsky J, Holtz C, Dawson ka (2004). Optigen ®1200: controlled release of non-protein nitrogen in the rumen. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 21., 2004, Lexington. **Proceedings...** Lexington: Alltech, 2004. p. 179-185.

Atkinson RL, Toone CD, Ludden PA (2007) Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on site and extent of digestion and ruminal characteristics in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science** 85:3322–3330.

Amaral PM, Mariz LDS, Zanetti D, Prados LF, Marcondes MF, Santos AS, Detmann E, Faciola AP, Valadares Filho SC (2018) Effect of dietary protein content on performance, feed efficiency and carcass traits of feedlot Nellore and Angus×Nellore cross cattle at different growth stages. **The Journal of Agricultural Science** 156:110–117. <https://doi.org/10.1017/S0021859617000958>.

Bartley EE, Davidovich AD, Barr GW, Griffel GW, Dayton AD, Deyoe CW, Bechtel RM (1976) Ammonia toxicity in cattle. I. Rumen and blood changes associated with toxicity and treatment methods. **Journal Animal Science**, v.43, p.835-841.

Barbero RP, Malheiros EB, Nave RLG, Mulliniks JT, Delevatti LM, Koscheck JFW, Romanzini EP, Ferrari AC, Renesto DM, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2017) Influence of post-weaning management system during the finishing phase on grasslands or feedlot on aiming to improvement of the beef cattle production. **Agricultural Systems** 153: 23-31.

Baker LD, Ferguson JD, Chalupa W (1995) Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. **Journal Dairy Science** 78:2424-2434.

Batista ED, Detmann E, Valadares Filho SC, Titgemeyer EC, Valadares RFD (2017) The effect of CP concentration in the diet on urea kinetics and microbial usage of recycled urea in cattle: a meta-analysis. **Animal** 11:8:1303–1311 [doi:10.1017/S1751731116002822](https://doi.org/10.1017/S1751731116002822).

Barton RK, Krysl LJ, Judkins MB, Holcombe DW, Broesdefl JT, Guntefl S, Valente A, Beam SW (1992) Time of daily supplementation for steers grazing dormant intermediate wheatgrass pasture. **Journal of Animal Science** 70:547-558.

Brandyberry SD, Cochran RC, Vanzant ES (1991) Influence of supplementation method on forage use and grazing behavior by steers cattle grazing bluestem range. **Journal of Animal Science** 69:4128:4136.

Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Carro MD, Kamel C (2006) Plant extracts effects in vitro rumen microbial fermentation. **Journal Dairy Science** 89:761-771. 2006.

Carareto R (2007) **Uso de ureia de liberação lenta para vacas alimentadas com silagem de milho ou pastagens de capim Elefante manejadas com intervalos fixos ou variáveis de desfolhas**. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2007. 113p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

Castañeda-Serrano RD, Ferriani-Branco A, Teixeira S, Garcia Diaz T, Diego-Sofiati A (2013) Urea de liberación lenta en dietas para bovinos productores de carne: digestibilidad, síntesis microbiana y cinética ruminal. **Agrociencia** 47:13-24.

Casagrande DC, Azenha MV, Vieira BR, Resende FD, Faria MH, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2013) Performance and carcass quality of feedlot- or pasture-finished Nellore heifers according to feeding managements in the postweaning phase. **Revista Brasileira de Zootecnia** 42:899-908.

Cosgrove GP (1997) Grazing behaviour and forage intake. In. International Symposium on animal production under grazing. Viçosa-MG. 471 p.

Costa JPR, Jesus R, Oliveira IM, Resende FD, Siqueira GR, Malheirs EB (2018) Does virginiamycin supplementation affect the metabolism and performance of Nellore bulls grazing under low and high gain rates? **Animal Science Journal** 89(10).

Church DC (1990) The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. Englewood Cliffs: Waveland Press 563 p.

Detmann E, Paulino MF, Zervoudakis JT, Cecon PR, Valadares filho SC, Gonçalves LC, Cabral LS, Melo AJN (2004) Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de novilhos mestiço em pastejo durante época seca: desempenho produtivo e característica de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia** 33:169-180.

Detmann E, Paulino MF, Mantovani HC, Valadares Filho SC, Sampaio CB, Souza MA, Lazzarini I, Detmann KSC (2009) Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science** 126:136-146.

Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC (2010) Otimização do uso dos recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE p.191-240.

Detmann E, Van Soest EEL, Batista ED, Huhtanen P (2014) An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science** 162:141-153.

Euclides VBP, Euclides Filho K, Costa FP, Figueiredo GR (2001) Desempenho de novilhos F1s Angus-Nelore em pastagens de *Brachiaria decumbens* submetidos a diferentes regimes alimentares. **Revista Brasileira de Zootecnia** 30:470-481.

França M (2017) **Produção e composição do leite de vacas jersey em pastagem tropical suplementadas com proteína de baixa degradabilidade ruminal.** Universidade do Estado de Santa Catarina, 2017. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina.

Fernandez JM, Croom WJ, Tate LP, Johnson AD (1990) Subclinical ammonia toxicity in steers: effects on hepatic and portal-drained visceral flux of metabolites and regulatory hormones. **Journal Animal Science**, v.68, p.1726-1742.

Ferreira RN, Oliveira ER, Orsine GJ, Paula AA, Oliveira LG, Bittencourt AR, Souza SN (2005) Liberação de nitrogênio amoniacal no rúmen com o uso de ureia encapsulada com polímero (Optigen® 1200 Alltec). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais...** Goiânia: SBZ.

Fernandez M, Serrano E, Frutos P, Giraldez FJ, Mantecon AR, Llach JR (1997) Efeito do suplemento Crina HC sobre a atividade degradativa ruminal em ovinos. **Inf. Tech. Econ. Agraria** 18:160-162.

Fernandes RM, Almeida CM, Carvalho BC, Alves Neto JA, Mota VAC, Resende FD, Siqueira GR (2016) Effect of supplementation of beef cattle with different protein levels and degradation rates during transition from the dry to rainy season. **Tropical Animal Health** 48:95-101.

Firkins JL (1996) Maximizing microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Nutrition** 126:1347-1354.

Gerdes L, Werner JC, Colozza MT, Carvalho DD, Schammas EA (2000) Avaliação de características agrônomicas e morfológicas das gramíneas forrageiras Marandu, Setária e Tanzânia aos 35 dias de crescimento nas estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia** 29:947-954.

Gabarra PR (2001) **Digestibilidade de nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos de novilhos Nelore alimentados com fontes protéicas e energéticas com diferentes degradabilidade ruminais** 109 p. Dissertação (Mestrado Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

Hoover WH, Stokes SR (1991). Various factors affecting microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science** 74:3630-3645.

Harrison GA, Tricarico JM, Dawson KA (2006) Effects of urea and Optigen® II on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in rumen- simulating cultures. In: NUTRITIONAL BIOTCHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 22., 2006, Lexington. Proceedings... Lexington: Alltech, 2006. 1 CD-ROM.

Huntington GB, Harmon DL, Kristensen NB, Hanson KC, Spears JW (2006) Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. **Animal Feed Science and Technology** 130:225-241.

Krysl LJ, Hess BW (1993) Influence of supplementation on behavior of grazing cattle. **Journal of Animal Science** 71:2546-2555.

Kozloski GV (2011) Bioquímica dos ruminantes. 3ª ed. Revista e ampliada. Santa Maria: Editora da UFSM.

Lazzarini I, Detmann E, Sampaio CB, Paulino MF, Valadares Filho SC, Souza MA, Oliveira FA (2009) Intake and digestibility in cattle fed low quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38:2021-2030.

Malacco VMR (2016) **Substituição parcial do farelo de soja por farelo de soja tratado com amino resina na dieta de vacas F1 Holandês x Gir manejadas em pastejo rotacionado.** Universidade Federal de Minas Gerais. 56p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas.

Marino CT, Medeiros SR (2015) Aditivos alimentares na nutrição de bovinos de corte IN: Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações. Medeiros, SR, Gomes, RCG, Bungenstab DJ. -- Brasília, DF: Embrapa, 2015. 176 p.

Moore JE (1980) Forage Crops. In: Hoveland, C.S. (ed.). Crop Quality, Storage, and Utilization. **Crop Science Society of America**. Madison, Wisconsin. 1980.

Marchesin WA, Herling VR, Luz PHC, Manella M, Freitas EC, Schalch Jr FJ, Ferreira PEB (2006) **Níveis da substituição da ureia de suplementos proteicos por ureia de liberação encapsulada na recria de machos da raça Nelore**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA João Pessoa. Anais... João Pessoa: SBZ, 43.

Mezzomo R, Paulino PVP, Barbosa MM, Martins TS, Paulino MF, Alves KS, Gomes DI, Monnera JIS (2016) Performance and carcass characteristics of young cattle fed with soybean meal treated with tannins. **Animal Science Journal** 87:743-854.

Moretti MH, Resende FD, Siqueira GR, Roth APTP, Custodio L, Roth MTP, Campos WC, Ferreira LH (2013) Performance of Nelore young bulls on Marandu grass pasture with protein supplementation. **Revista Brasileira de Zootecnia** 42:438-446.

McDonald Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA, Sinclair LA, Wilkinson RG (1995) Animal Nutrition. 5th ed. Longman Scientific and Technical: New York. 1995. 607p.

National Research Council – NRC (2000) Nutrient requirements of beef cattle 7.rev.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 242p.

Nocek JE, Russell JB (1988) Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science** 71:2070-2107.

Newbold JR, Rust SR (1992) Effects of a synchronous nitrogen and energy supply on growth of ruminal bacteria in batch culture. **Journal. Animal Science** 70:538-546.

Owens FN, Gill DR, Secrist DS, Colema SW (1995) Review of some aspects of growth and development of feedlot cattle **Journal of Animal Science** 73:3152.

Pardo RMP, Fischer V, Balbinotti M, Moreno CB, Ferreira EX, Vinhas RI, Monks PL, (2003) Comportamento Ingestivo Diário de Novilhos em Pastejo Submetidos a Níveis

Crescentes de Suplementação Energética. **Revista Brasileira Zootecnia** 32:1408-1418.

Peruchena CA (1999) Suplementación de bovinos para carne sobre pasturas tropicales, aspectos nutricionales, productivos y económicos In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis. Nutrição de Ruminantes, 1999.

Poppi DP, Mclennan SR (1995) Protein and energy utilization by ruminants t pasture. **Journal of Animal Science** 73:278-290.

Poppi DP, Quigley SP, Correa TA, Mclennan SR (2018) Challenges of beef cattle production from tropical pastures. **Revista Brasileira de Zootecnia** 47:e20160419.

Paulino MF, Detmann E, Valente EEL, Barros LV (2008) Nutrição de bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM **Anais...** Viçosa: DZO-UFV p.131-169.

Reis RA, Rodrigues LRA, Pereira JRA (1997) Suplementação como estratégia para o manejo das pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DAS PASTAGENS **Anais...** Piracicaba: Piracicaba, FEALQ, p123-150.

Roth MTP, Resende FD, Siqueira GR, Fernandes RM, Custodio L, Roth APTP, Moretti, MH, Campos WC (2013) Supplementation of Nellore young bulls on Marandu grass pastures in the dry period of the year. **Revista Brasileira de Zootecnia** 42:447-455.

Russell JB, O'Connor JD, Fox DG, Van Soeste PJ, Sniffen CJA (1992) A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science** 70:3551-3561.

Simeone A, Beretta V, Elizalde JC, Sabbia J (2009) Sustitución de la harina de girasol por Optigen® en dietas de alto concentrado en feedlot: respuesta de terneros y novillos. 25th International Symposium of Science and Technology in the Feed Industry. 2009.

Sampaio CB, Detmann E, Lazzarini I, Souza MA, Paulino MF, Valadares Filho SC (2009) Rúmen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira Zootecnia** 38:560-569.

Santos FAP, Pedroso AM (2011) Metabolismo de proteínas. In: Berchielli, T.T; Pires, A.V; Oliveira, S.G. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, ed 2, p.265- 292.

Satter LD, Slyter LL (1974) Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production "in vitro". **British Journal of Nutrition** 32:199.

Taylor-Edwards CC, Hibbard G, Kitts SE, McLeod KR, Axe DE, Vanzant ES, Kristensen NB, Harmon DL (2008) Effects of slow-release urea on ruminal digesta characteristics and growth performance in beef steers. **Journal of Animal Science**: 87:200-208.

Tedeschi LO, Baker MJ, Ketchen DJ, Fox DG (2002) Performance of growing and finishing cattle supplemented with a slow-release urea product and urea. **Canadian Journal of Animal Science** 82:567-573.

Valadares Filho SC, Pina DS (2011) Fermentação Ruminal. In: Berchielli, T.T; Pires, A.V; Oliveira, S.G. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, ed 2, p.161- 189.

Valadares Filho SC, Costa e Silva LF, Gionbelli MP, Rotta PP, Marcondes MI, Chizzotti ML, Prados LF (2016) Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados BR-CORTE. 3nd. ed. Viçosa: DZO-UFV, 327p.

Van Soest PJ (1994) Nutritional ecology of the ruminant. ed., New York: Cornell University Press, 476p.

Wallace RJ (1996) Rumen microbial metabolism of peptides and amino acids. **Journal of Nutrition** 126:1326S-1334S.

CAPÍTULO 2: COMPORTAMENTO INGESTIVO, DESEMPENHO E METABOLISMO DE TOURINHOS NELORE RECRIADOS EM PASTO, SUPLEMENTADOS COM FONTES DE NITROGÊNIO NÃO PROTEICO DURANTE A ESTAÇÃO SECA EM DIFERENTES HORÁRIOS DE SUPLEMENTAÇÃO

RESUMO - O objetivo nesse estudo foi avaliar o efeito da suplementação com diferentes fontes de nitrogênio não proteico em diferentes horários de suplementação sob desempenho, comportamento ingestivo e metabolismo de bovinos Nelore, recriados, durante a fase de seca. Foram utilizados 120 tourinhos, peso corporal (PC) inicial de 206 ± 39 kg e 12 meses de idade no experimento de desempenho e comportamento ingestivo e 12 animais canulados no rúmen com peso médio de 509 ± 59 no experimento de metabolismo. A área experimental foi constituída de 20 piquetes, com 3 ha cada de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com 6 animais cada no experimento de desempenho e comportamento ingestivo. A duração foi de 98 dias, sendo 14 dias de adaptação e três períodos de 28 dias. O delineamento foi em blocos casualizados em esquema fatorial 2×2 sendo os fatores, fonte de nitrogênio não proteico (ureia e ureia de liberação controlada [Optigen®]) e horário de suplementação (manhã [7:00 h] e tarde [13:00 h]). O suplemento foi proteico energético 4 g/kg PC. As variáveis avaliadas no comportamento ingestivo foram executadas por pessoas treinadas durante 24 horas com intervalo de frequência de 10 minutos, correspondendo a uma avaliação de comportamento ingestivo por período experimental. Os animais foram pesados em jejum de 16 horas de sólidos e líquidos a cada 28 dias para mensuração do desempenho. Para as avaliações de metabolismo foram utilizadas 12 animais canulados no rúmen sendo três quadrados latinos simultâneos (3 quadrados latinos 4×4). Cada período teve duração de 21 dias onde a adaptação ocorreu do 1º ao 10º dia. Amostras de sangue foram coletadas, em cada período, no tempo zero (antes da suplementação) e 2, 3 e 6 horas após a suplementação. As concentrações séricas de glicose, proteína, ureia e creatinina foram mensuradas. O fluido ruminal foi coletado em dois dias consecutivos para avaliação do nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃), no primeiro dia foram coletados líquidos às 0, 6, 12 e 18 horas após a suplementação e 3, 9, 15 e 21 horas após a alimentação no segundo dia. As análises de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e pH ruminal foram utilizadas as amostras nos horários de 0, 6, 12 e 18 horas após a suplementação. As mensurações de pH foram realizadas imediatamente após as coletas. Não houve influência das fontes de nitrogênio não proteico e horários de suplementação, assim como as interações sobre o comportamento ingestivo dos bovinos ($P > 0,10$). O tempo de pastejo foi reduzido em 92 minutos ($P < 0,01$) no terceiro período comparado aos dois primeiros. Houve interação entre horário de suplementação e horário da coleta de fluido ruminal para a variável pH ruminal ($P < 0,01$). Seis horas após a suplementação, os valores de pH ruminal foram menores e AGCC total maiores nos animais suplementados no período da tarde ($P < 0,03$). Houve efeito da adição de ureia de liberação controlada (Optigen®) na suplementação para as concentrações de isovalerato ($P = 0,02$) e foi possível observar tendências de superioridades na concentração de valerato ($P = 0,07$). Com exceção do isovalerato, todas as variáveis ruminiais apresentaram diferenças no horário de coleta ($P < 0,01$). As fontes e horário de suplementação não afetam o comportamento ingestivo e desempenho dos bovinos.

Palavras-chave: nitrogênio não proteico, Optigen®, ureia

INGESTIVE BEHAVIOR, PERFORMANCE AND METABOLISM OF GRAZING NELLORE STEERS SUPPLEMENTED WITH DIFFERENT SOURCES OF NON-PROTEIN NITROGEN DURING THE DRY SEASON AT DIFFERENT TIMES OF SUPPLEMENTATION

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with different sources of non-protein nitrogen at different feeding times during performance, ingestion behavior and metabolism of reared Nellore cattle during the dry season. A total of 120 steers, body weight (BW) of 206 ± 39 kg and 12 months of age were used for performance and ingestive behavior and 12 rumen cannulated animals with 509 ± 59 BW for metabolism experiment. The experimental area consisted of 24 paddocks, with 3 hectare each of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Twenty paddocks with 6 animals each for the experiment of performance and ingestive behavior were used. The experiment lasted 98 days, 14 days of adaptation and three periods of 28 days. The trial was in randomized block design in a 2×2 factorial arrangement with the factors being a source of non-protein nitrogen (urea and protected urea [Optigen®]) and supplementation hour (morning [7:00 a.m.] and afternoon [1 p.m.]). The supplement was offered in the same amount, 4 g/kg BW. The variables evaluated in the ingestive behavior were performed by trained people during 24 hours with a frequency interval of 10 minutes, corresponding to a collection of ingestive behavior per experimental period. The animals were weighed fasting 16 hours of solids and liquids every 28 days. For the metabolism evaluations, 12 rumen cannulated animals were used in the rumen, being three simultaneous Latin squares 4×4 . Each period had lasted 21 days, where the adaptation occurred from the 1st to the 10th day. Blood samples were collected in each period at time zero (before supplementation) and 2, 3 and 6 hours after supplementation. Glucose, protein, urea and creatinine concentrations were measured in the blood. Ruminal fluid was collected on two consecutive days for evaluation of ruminal ammoniacal nitrogen (N-NH₃). On the first day, liquids were collected at 0, 6, 12 and 18 hours after supplementation and at 3, 9, 15 and 21 hours after feeding on the second day. For volatile fatty acids (VFA) and ruminal pH analyzes, the samples were used only at the times of 0, 6, 12 and 18 hours after the supplementation. The pH measurements were performed immediately after collection. Data were analyzed using the PROC MIXED of SAS and the averages were compared by the t-test and the differences considered when $P < 0.05$ and trends were discussed when $0.05 \geq P \leq 0.10$. There was no influence of the sources of non-protein nitrogen and supplementation hour, as well as the interactions on the ingestive behavior of the cattle ($P > 0.10$). The grazing time was reduced in 92 minutes ($P < 0.01$) in the third period compared to the first and second one. There was interaction between supplementation time and the time of ruminal fluid collection for the ruminal pH variable ($P < 0.01$). Six hours after supplementation, ruminal pH values were lower and total VFA was higher in supplemented animals in the afternoon ($P < 0.03$). There was an effect of the addition of protected urea (Optigen®) in the supplementation to the isovalerate concentrations ($P = 0.02$) and it was possible to observe trends of superiority in the valerate concentration ($P = 0.07$). Except for isovalerate, all ruminal variables presented differences in collection time ($P < 0.01$). The sources and hours of supplementation do not affect the ingestive behavior and performance of cattle.

Keywords: non-protein nitrogen, Optigen®, urea

1. INTRODUÇÃO

A ureia é tradicionalmente uma das principais fontes de nitrogênio não proteico (NNP) fornecida em suplementos para ruminantes em pastejo. No rúmen, a ureia é hidrolisada e libera amônia; entretanto, se a amônia não é utilizada como fonte de nitrogênio pelos microrganismos, isso pode implicar em perdas de nitrogênio ou até intoxicação animal por amônia. A taxa de hidrólise da ureia no rúmen ocorre cerca de 1 a 2 horas após ingestão (Santos e Pedroso, 2011).

A ureia, uma vez hidrolisada em N-NH_3 no rúmen, pode ser incorporada pelos microrganismos ruminais e transformada em aminoácidos e proteína microbiana, que serão aproveitadas posteriormente pelo animal (Kozloski, 2011). Porém, para que a ureia seja utilizada como fonte de nitrogênio, há necessidade de disponibilidade de um suprimento adequado de carboidratos fermentescíveis para que ocorra a síntese de proteína microbiana, pois as bactérias têm uma capacidade limitada de assimilação do N-NH_3 . Com isso, pode haver um acúmulo e escape de nitrogênio amoniacal do rúmen, e para que esse seja eliminado do organismo animal há necessidade de gasto de energia no ciclo da ureia (Verbic, 2002). Energia essa que poderia ser utilizada para aumentar o desempenho animal.

Aliado a isso, as pastagens apresentam valores elevados de carboidratos de origem fibrosa que apresentam baixa taxa de degradação ruminal na época seca do ano. Assim, se faz necessário uma adequação da taxa de liberação de nitrogênio amoniacal e disponibilidade de carboidratos fermentados (Santos e Pedroso, 2011). O uso de uma ureia de liberação controlada pode ser uma alternativa para que haja uma sincronia entre a disponibilidade de amônia e energia ruminal em épocas secas do ano.

Além do tipo de suplementação, uma outra forma de aumentar o uso energia e proteína para crescimento dos microrganismos ruminais seria o horário de suplementação. Bovinos em pastejo em climas tropicais possuem dois horários de pico de pastejo, no início da manhã e no final da tarde; portanto, o fornecimento de suplementos no início da manhã, onde ocorre o primeiro pico de pastejo pode proporcionar maior efeito de substituição, reduzindo consumo de pasto (Adams,

1985), além de que, pode diminuir o sincronismo na taxa de liberação de energia e proteína.

Uma hipótese desse experimento é que animais alimentados com ureia de liberação controlada [Optigen®] melhoraria o aproveitamento do nitrogênio pelos microrganismos, pois, com a menor velocidade de disponibilização da energia pela taxa de degradação da fibra, terá melhor sincronização com ureia de liberação controlada [Optigen®] em relação à ureia normal pela menor taxa de liberação.

Outra hipótese é que a suplementação no horário de 13:00h melhoraria o aproveitamento do nitrogênio proveniente da ureia pelos microrganismos ruminais, pois como neste horário os animais já apresentaram pico de pastejo, assim essa forragem vai disponibilizar esqueletos de carbono que, em sincronia com degradação de proteína no rúmen, poderá proporcionar melhor aproveitamento do N-amoniaco. A suplementação quando fornecida pela manhã com ureia de liberação controlada [Optigen®] pode assegurar no rúmen a utilização mais efetiva dos carboidratos fibrosos, por propiciar maior sincronismo no rúmen da amônia e energia na degradação da fibra, diminuindo perdas de nitrogênio.

Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar qual a melhor suplementação com fontes de nitrogênio não proteico em diferentes horários de suplementação sobre desempenho, comportamento ingestivo e metabolismo de bovinos Nelore, recriados, durante a estação de seca.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de acordo com as normas e aprovado pelo comitê de Ética da FCAV/UNESP/Jaboticabal-SP, Brasil (número 15471/15), conforme a lei número 11977 do Estado de São Paulo, Brasil (São Paulo, 2005).

Local e dados climáticos

O experimento foi realizado no Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana (PRDTA – Alta Mogiana) em Colina – SP, Brasil de agosto a novembro de 2015. A precipitação pluvial anual média é de 1304 mm de acordo com dados coletados na unidade de pesquisa, sendo que deste total, 93%

ocorreram nos meses de outubro a maio. Os dados de precipitação e temperatura observados durante os períodos experimentais estão demonstrados na Figura 1.

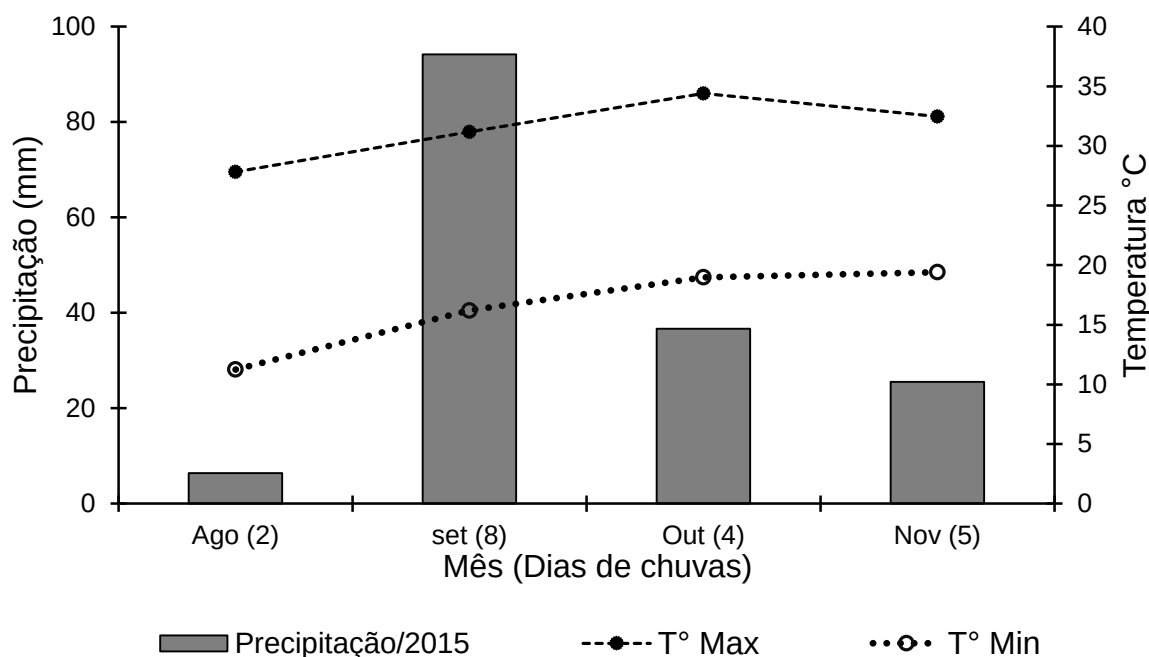


Figura 1. Dados climáticos (precipitação e temperatura máxima e mínima) durante o período experimental registrados no município de Colina - SP.

Delineamento e tratamentos

Os 4 tratamentos foram divididos em um arranjo fatorial 2×2 : duas fontes de nitrogênio não proteico (ureia e ureia de liberação controlada [Optigen®] e dois horários de suplementação [manhã (7:00 h) e tarde (13:00 h)]) em delineamento em blocos completos ao acaso.

Tratamentos:

- 1- Suplementação proteico energética 4g/kg peso corporal (PC) com ureia as 7:00 horas
- 2- Suplementação proteico energética 4g/kg PC com ureia as 13:00 horas
- 3- Suplementação proteico energética 4g/kg PC com ureia de liberação controlada [Optigen®] as 7:00 horas
- 4- Suplementação proteico energética 4g/kg PC com ureia de liberação controlada [Optigen®] as 13:00 horas

O suplemento foi proteico energético contendo 26% de proteína bruta (PB), 77,5% de fibra em detergente neutro 30% de fibra em detergente ácido, 2,3% de extrato etéreo oferecidos ao nível de 4 g/kg de peso corporal composto por milho moído (74%), farelo de amendoim (13%), ureia ou Optigen® (5%), minerais e vitaminas (8%).

Estudo 1- Desempenho e comportamento ingestivo

Animais e método de pastejo

Foram utilizados 120 tourinhos da raça Nelore, não castrados, com 12 meses de idade e média de 206 ± 39 kg de peso corporal, distribuídos em 20 piquetes de 3 ha cada de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, correspondendo a 6 animais por piquete, para as avaliações de comportamento ingestivo e desempenho.

O método de pastejo adotado foi o contínuo. Adotou-se um critério de oferta de massa e oferta de folhas semelhantes entre os tratamentos em cada estação. Para manter a oferta de forragem disponível semelhante e homogênea entre os piquetes foi utilizado o método “put and take” (Mott e Lucas, 1952), sendo utilizados animais oriundos da mesma desmama e alojados em piquetes anexo aos utilizados no experimento.

Avaliação de desempenho

O experimento teve duração de 98 dias, sendo 14 dias de adaptação e três períodos de avaliação de 28 dias. Os pesos corporais foram obtidos em procedimento padrão de pesagem de bovinos, após 16 horas de jejum de sólidos e água, no início e final de cada período experimental de 28 dias.

Avaliação do comportamento ingestivo

A avaliação do comportamento ingestivo, o tempo de pastejo e o tempo no suplemento durante o período diurno (6:00 às 17:50 h), noturno (18:00 a 05:50 h) e total foram avaliados por pessoas treinadas em intervalos de 10 minutos em 1 dia em cada período (Hughes e Reid, 1951).

Avaliação quantitativa da forragem

As estimativas da massa de forragem foram obtidas no final de cada período pelo método de dupla amostragem (Sollenberger e Cherney, 1995). A avaliação dos componentes quantitativos e estruturais do dossel forrageiro, foram coletadas as amostras da altura média de cada piquete e divididas em quatro frações: caule verde, folha verde, caule morto / senescente e folha morta / senescente.

Análises químicas da forragem

Na avaliação qualitativa, as amostras foram colhidas pelo método de pastejo simulado (De Vries, 1995), em cada período experimental. Estas amostras foram secas a 55 ° C em forno de circulação de ar forçada durante 72 h e depois moídas utilizando um moinho de facas Wiley (crivo da peneira de 1mm) armazenadas para análise química. Os conteúdos de matéria seca (método 934.01), matéria mineral (método 942.05), proteína bruta (método 978.04) e extrato etéreo (método 920.39) foram analisados de acordo com as recomendações da AOAC (1995).

O teor de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foi avaliado por análise sequencial descrita por Robertson e Van Soest (1981), utilizando um analisador de fibras TECNAL® TE-149 (Piracicaba, SP, BRA). A celulose foi solubilizada com ácido sulfúrico a 72% e o teor de lignina foi obtido por diferença (Goering e Van Soest, 1970). Na tabela 1, estão apresentados os valores das características do pasto no período experimental.

Tabela 1. Características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro (pastejo simulado) de pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu durante a fase de recria de bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico e diferentes horários de suplementação.

Fonte (F)	Ureia		Optigen®		Períodos			EPM ¹	P valor ²			
Horário suplementação (H)	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde	1	2	3		F	H	F×H	Período
Quantitativo												
Altura, cm	24,3	27,7	29,5	25,3	18,6b	18,3b	42,1a	2,68	0,57	0,86	0,13	<0,01
Massa de forragem, kg MS	3975	3986	3808	3793	3415b	3806b	4450a	245	0,38	0,99	0,95	<0,01
Massa de forragem verde, kg MS	2248	2344	2144	2257	1451c	1919b	3375a	230	0,54	0,51	0,96	<0,01
Massa de folha verde, kg MS	1474	1557	1405	1482	895c	1233b	2313a	190,4	0,53	0,52	0,99	<0,01
Folha verde, % MS	35,6	38,1	36,1	37,0	25,3c	32,9b	42,4a	0,03	0,99	0,19	0,75	<0,01
Colmo verde, % MS	16,7	17,1	19,0	18,7	16,3b	17,7b	23,4a	0,01	0,56	0,53	0,85	<0,01
Folha morta, % MS	24,3	22,9	23,3	22,0	28,1a	28,4a	25,2b	0,01	0,19	0,82	0,66	0,02
Colmo morto, % MS	23,5	23,4	23,1	22,7	29,2a	24,0b	24,3b	0,01	0,38	0,72	0,65	<0,01
Qualitativo / Pastejo Simulado												
Material mineral, % MS	7,59	7,85	7,61	7,77	<0,01	7,93b	8,25a	0,15	0,82	0,17	0,75	<0,01
Proteína bruta, % MS	9,47	9,41	9,13	9,86	0,02	10,37a	8,50b	0,38	0,89	0,39	0,30	0,02
Extrato etéreo, % MS	2,32	2,28	2,22	2,54	0,12	2,32	2,32	0,18	0,65	0,43	0,31	0,12
Fibra em detergente neutro, % MS	62,9	63,3	63,2	62,7	<0,01	64,4a	63,4a	0,81	0,86	0,98	0,60	<0,01
Fibra em detergente ácido, % MS	29,5	29,1	29,4	29,4	<0,01	29,7a	30,2a	0,65	0,89	0,72	0,77	<0,01
Lignina, % MS	8,41	9,03	8,55	8,28	0,13	8,62	8,57	0,27	0,23	0,48	0,08	0,13
NIDA, % N Total	8,42	9,79	9,01	9,09	0,50	9,05	9,63	0,76	0,94	0,33	0,40	0,50
NIDN % N Total	39,7	38,1	41,4	39,2	0,39	41,7	39,7	2,15	0,59	0,46	0,91	0,39
FDNi	13,1	13,2	13,7	13,7	0,36	13,6	13,8	0,78	0,12	0,86	0,96	0,36
Digestibilidade verdadeira, MS	82,7	83,3	82,6	82,8	<0,01	80,1c	82,3b	0,64	0,66	0,59	0,75	<0,01

NIDA = Fibra indigestível em detergente ácido, NIDN = Fibra indigestível em detergente neutro, FDNi=Fibra em detergente neutro indigestível.

Análises estatísticas – Estudo 1

Como o experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso com arranjo fatorial 2×2 , cada piquete foi considerado como unidade experimental e o PC inicial foi o critério adotado para a formação dos blocos (5 blocos, 5 piquetes / tratamento, 6 animais / piquete). Os dados foram analisados como um modelo misto, sendo considerado como efeitos fixos as fontes de nitrogênio e horários de suplementação suas interações, enquanto o bloco foi considerado aleatório no modelo.

Os dados foram submetidos à análise de variância como medidas repetidas ao longo do tempo, utilizando o REPEATED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Diferentes estruturas de covariância residual foram testadas para determinar a estrutura que melhor se ajusta a cada variável. A estrutura de covariância foi escolhida utilizando os critérios de informação Bayesiana (BIC), nos quais o menor valor de BIC foi usado como seleção.

Em todas as análises estatísticas, foi utilizado o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Diferenças foram consideradas significantes quando $P < 0,05$ enquanto tendência foi considerada quando $0,05 \leq P \leq 0,10$.

Estudo 2- Metabolismo

Animais

Nas avaliações de parâmetros sanguíneos e ruminais foram utilizados 12 bovinos Nelore não castrados canulados no rúmen com peso médio de 509 ± 59 kg. Foram destinados 4 piquetes, sendo três quadrados latinos simultâneos (3 quadrados latinos 4×4). Cada período teve duração de 21 dias com 14 dias de adaptação para o consumo de suplemento (Machado et al., 2016).

Avaliações sanguíneas

Amostras de sangue foram coletadas, em cada período no 20º e 21º dia (Figura 2), no tempo zero (antes da suplementação) e 2, 3 e 6 horas após a suplementação. Foram coletadas por meio de pulsão da veia jugular em tubos Vacutainer® de 10 mL, contendo heparina sódica (Vacutainer Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Os

tubos Vacutainers foram homogeneizados e acondicionados, imediatamente após a venopunção, em recipientes refrigerados a 4 °C. As amostras foram centrifugadas a $1500 \times g$, por 20 min em temperatura ambiente, para a separação do plasma, conforme descrito por Kerr (2003), e as alíquotas foram armazenadas em tubos eppendorfs a -20 °C. As concentrações séricas de glicose, proteína, ureia e creatinina foram mensuradas por método colorimétrico utilizando kit enzimático (LaborLab®, São Paulo, Brasil). As análises foram determinadas em espectrofotômetro automático (Labmax plenno– lasbtest).

Avaliações ruminais

O fluido ruminal foi coletado (Figura 2) em dois dias consecutivos em que no 18° dia (Figura 2) foram coletados líquidos às 0, 6, 12 e 18 horas após a suplementação no 19° dia, as 3, 9, 15 e 21 horas após a alimentação para avaliação dos parâmetros ruminais. As análises dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e pH ruminal foram utilizadas as amostras nos horários de 0, 6, 12 e 18 horas após a suplementação e nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) às 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 horas após a suplementação. As coletas foram feitas por meio da fístula no rúmen. O material proveniente das regiões inferior, central e superior do interior do rúmen foi coletado misturado e acondicionado em panos de poliéster com porosidade de 0,5 mm, para que assim fosse filtrado e o fluido originado foi então armazenado em recipientes adequados.

Nas amostras de fluido ruminal, foram mensurados o pH, a concentração de $N-NH_3$ e de AGCC. As mensurações de pH foram realizadas imediatamente após as coletas, por intermédio de pHmetro digital (Model MA522, Marconi Laboratory Equipment, Piracicaba, SP, Brasil). Para quantificação da amônia ruminal uma alíquota de 50 mL foi separada, acondicionada em recipiente de plástico contendo 1,0 mL de ácido sulfídrico (1:1), posteriormente centrifugadas a 4 °C e $1500 \times g$ por 30 minutos e determinados em espectrofotômetro manual (FEMTO) conforme Noel e Hambleton (1976).

Na determinação dos AGCC, foram coletadas alíquotas de 5 mL em cada tempo amostral, armazenados em frascos contendo 1 mL de ácido fórmico e congeladas a -20 °C. As determinações dos AGCC foram feitas segundo método

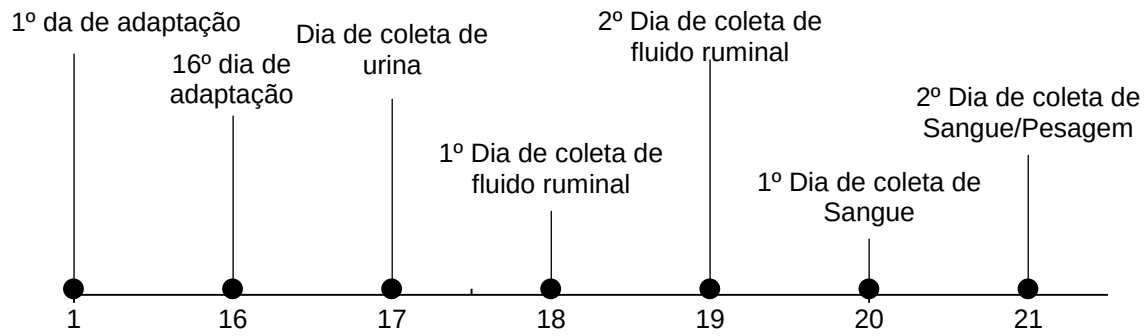
descrito por Erwin et al. (1961) utilizando cromatógrafo gasoso (GC2014, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), equipado com HP-INNOWax capillary column (30 m × 0,32 mm; Agilent Technologies, Colorado, USA). Foram calculadas as proporções molares dos ácidos acético, butírico, propiônico, isovalérico e valérico, assim como a relação acetato:propionato e a quantidade total de AGCC (mM/100 mM).

Síntese de proteína microbiana

Para a estimativa da síntese de proteína microbiana, foram utilizados como indicadores os derivados de purinas (DP) na urina dos animais (Fujihara et al., 1987). Foram colhidas amostras spot de urina por micção (Chizzotti et al., 2008). Alíquotas de 10 mL de urina foram diluídas em 40 mL de H₂SO₄ à 0,036 N para análises de alantoína por método colorimétrico, segundo Fujihara et al. (1987), e descrito por Chen e Gomes (1992); creatinina (método colorimétrico-picrato alcalino) e ácido úrico (enzimático trinder) foram realizadas por meio de kits comerciais (Labtest Diagnostic S.A., Lagoa Santa, Brasil).

O volume urinário total diário foi estimado pela divisão da excreção diária de creatinina pela concentração de creatinina na urina (Costa e Silva et al., 2012), utilizando a seguinte equação: *Excreção diária de urina (g/dia)* = $0,0345 \times PC^{0,9491}$.

A estimativa da excreção diária de derivados de purina foi calculada utilizando a soma da concentração de alantoína e ácido úrico. As purinas absorvidas e o fluxo de nitrogênio microbiano para o intestino delgado (NMIC) foram calculados de acordo com Barbosa et al. (2011) usando as equações: *Purinas absorvidas* = (derivados de purina + $(0,301 \times PC^{0,75}) / 0,80$) e *N microbiano* = $(70 \times \text{purinas absorvidas}) / (0,90 \times 0,137 \times 1000)$, em que purinas absorvidas está em mmol/dia e NMIC é fluxo de N microbiano para o intestino delgado, em g/dia.



Esquema 2. Linha do tempo dos dias de coleta nos animais de metabolismo.

Análises estatísticas – Estudo 2

Os resultados foram analisados considerando um delineamento em quadrado latino 4x4, com agrupamento de três quadrados simultâneos (cada animal dentro do piquete foi considerado como unidade experimental), em esquema fatorial 2 x 2, duas fontes de nitrogênio não proteico (ureia e ureia de liberação controlada [Optigen®] e dois horários de suplementação [manhã (7:00 h) e tarde (13:00 h)]). Em todas as análises estatísticas, foi utilizado o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$ enquanto tendência foi considerada quando $0,05 \leq P \leq 0,10$.

3. RESULTADOS

Não houve influência do horário de suplementação, fontes de ureia e suas interações no tempo de pastejo e no tempo diurno, noturno ($P > 0,10$; Tabela 2).

Tabela 2. Comportamento ingestivo por 24 horas de bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação

Fonte (F)	Ureia		Optigen®		EPM ¹	<i>P</i> valor ²		
Horário de suplementação (H)	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde		F	H	Período
Pastejo, min	523	492	519	533	29,0	0,26	0,62	< 0,01
Cocho, min	55	44	56	43	8,00	0,98	0,16	0,03
Pastejo diurno, min	330	338	315	322	12,9	0,26	0,57	<0,01
Pastejo noturno, min	278	267	272	294	13,9	0,38	0,64	<0,01
Cocho diurno, min	50,0	43,1	52,7	39,2	7,59	0,94	0,19	0,06
Cocho noturno, min	4,78	3,36	3,33	3,44	1,72	0,84	0,32	0,03

¹Erro padrão da média. ²As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \leq 0,10$. As interações FxH, FxP, HxP e FxHxP não foram significativas ($P > 0,17$).

O tempo de pastejo foi reduzido em 92 minutos ($P < 0,01$; Figura 2) no terceiro período comparado aos demais. O tempo de cocho no primeiro período foi 42% menor em relação aos últimos períodos que teve média de 57 min (Figura 3).

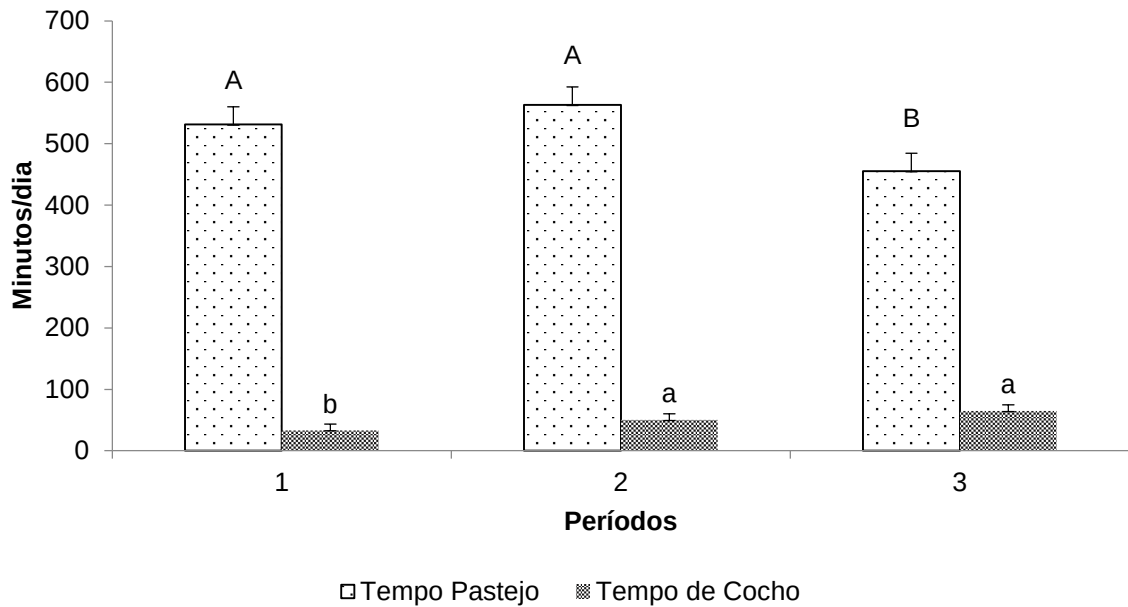


Figura 2. Tempo de pastejo e tempo de cocho de bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação

Na figura 3 a,b, c e d estão apresentados as médias do comportamento dos animais de cada tratamento em um período de 24 horas. Observa-se que o comportamento dos horários em que os animais se encontram em pastejo, na área de cocho e em ócio é muito semelhante.

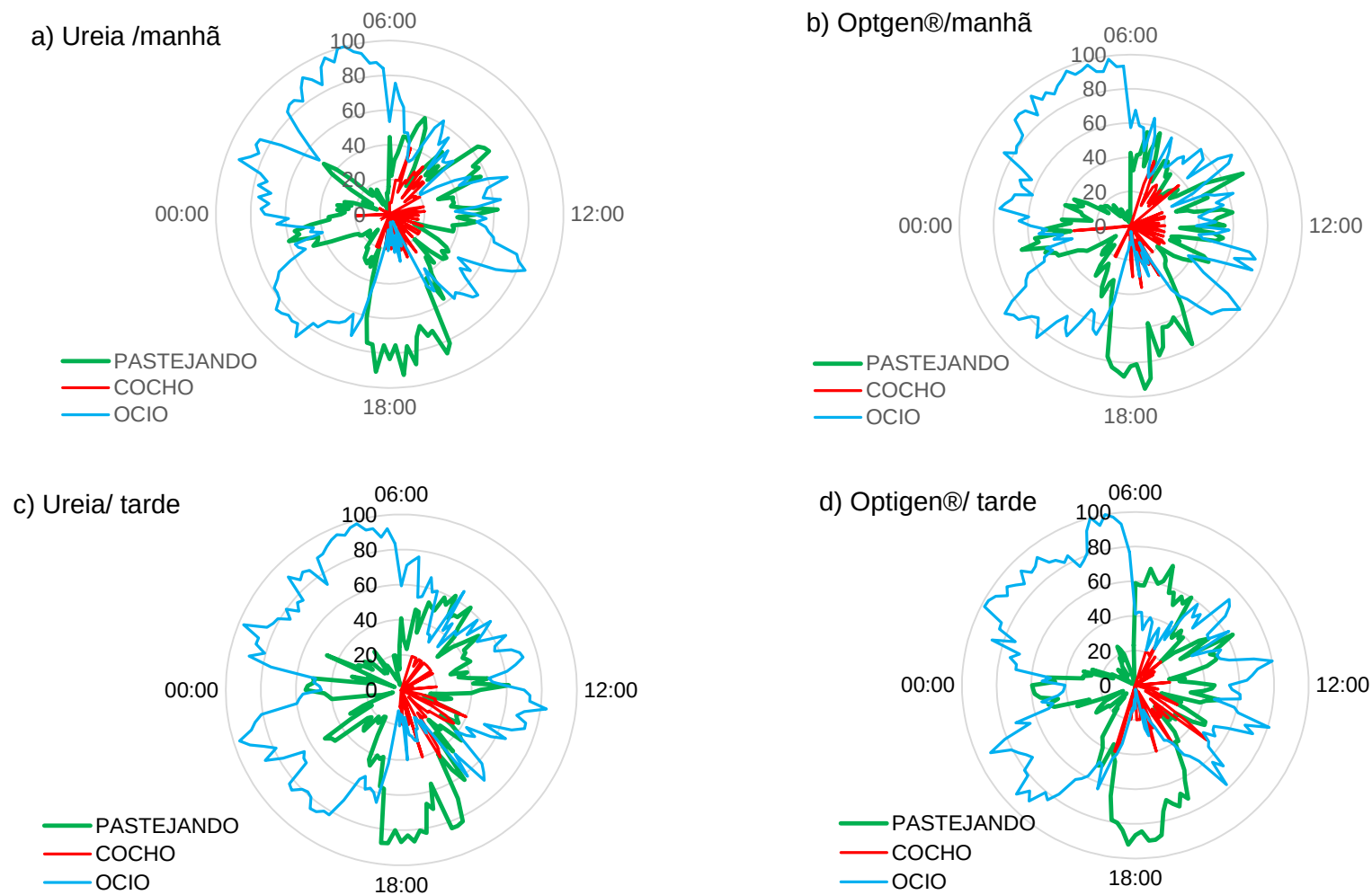


Figura 3: Porcentagem de tourinhos Nelore pastejando no cocho ou em ócio em 24 horas (média de três avaliações), suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação.

Não houve influência dos fatores e suas interações sobre o GMD ($P > 0,45$) e peso corporal final ($P > 0,39$). O GMD foi de 0,623 kg. Nos períodos experimentais o ganho médio diário foi diferente em todos os períodos. Os ganhos tiveram média de 0,303, 0,743 e 0,822 kg no primeiro, segundo e terceiro período, respectivamente.

Tabela 3. Desempenho de bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação

Fonte(F)	Ureia		Optigen®		EPM ¹	P valor ²	
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde		F	H
Peso corporal inicial, kg	208	205	207	204	16,4	0,59	0,12
Peso corporal final, kg	261	254	260	257	17,2	0,85	0,13
Ganho médio diário, kg/dia	0,634	0,591	0,635	0,630	0,32	0,37	0,29

¹Erro padrão da média. ²As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \leq 0,10$. As interações no GMD de período FxH, FxP, HxP e FxHxP não foram significativas ($P < 0,46$).

Houve efeito da adição de ureia de liberação controlada na suplementação sobre as concentrações de isovalerato ($P = 0,02$) e foi possível observar tendências de 4% de superioridades na concentração de valerato ($P = 0,07$) (Tabela 4) quando comparados ao tratamento em que foi fornecido ureia.

A concentração de propionato tendeu a ser 3% superior em animais que foram suplementados na manhã ($P = 0,08$, Tabela 4). Com exceção do isovalerato, todas as variáveis ruminais apresentaram diferenças no horário de coleta ($P < 0,01$, Tabela 4).

Houve tendência de interação nas fontes de nitrogênio não proteico e horários de suplementação para as concentrações de propionato, acetato e relação acetato:propionato ($P > 0,08$, Tabela 4).

Tabela 4. Concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, amônia e pH em bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação

Fonte (F)	Ureia		Optigen®		EPM ²	P Valor ³						
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde		F	H	Hor. Coleta	F×H	F×C.	H×C.	F×H×C
pH	6,70	6,71	6,69	6,70	0,09	0,83	0,41	<0,01	0,56	0,77	<0,01	0,12
A:P ¹	3,98b	4,27a	4,11ab	4,08ab	0,22	0,77	0,19	<0,01	0,09	0,81	0,92	0,24
AGCC Total, mM	158	153	156	157	4,92	0,45	0,27	<0,01	0,20	0,55	0,08	0,57
Acetato, mol/100 mol	60,8b	61,8a	61,0ab	60,6b	0,84	0,21	0,40	<0,01	0,08	0,07	0,47	0,37
Propionato, mol/100 mol	15,4a	14,6b	15,1ab	15,0ab	0,64	0,91	0,08	<0,01	0,08	0,59	0,66	0,31
Butirato, mol/100 mol	7,59	7,37	7,56	7,48	0,32	0,75	0,23	<0,01	0,57	0,96	0,80	0,98
Isovalerato, mol/100 mol	7,36	7,02	7,53	7,75	0,45	0,02	0,75	0,23	0,15	0,41	0,03	0,23
Valerato, mol/100 mol	2,59	2,57	2,61	2,70	0,27	0,07	0,38	<0,01	0,18	0,86	0,34	0,32
NH ₃ , mg/dL	7,46ab	6,49b	7,04ab	7,85a	1,07	0,32	0,86	<0,01	0,06	0,64	<0,01	0,05

¹Relação acetato:propionato. ²Erro padrão da média. ³As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \geq 0,10$.

Houve interação entre horário de suplementação e horário da coleta de fluido ruminal na variável pH ruminal ($P < 0,01$, Figura 4). Sendo que 7:00, 13:00 e 19:00 horas os valores de pH ruminal dos animais suplementados no período da tarde foram 2, 2,5 e 2% superiores aos animais que receberam suplementação no período da manhã respectivamente.

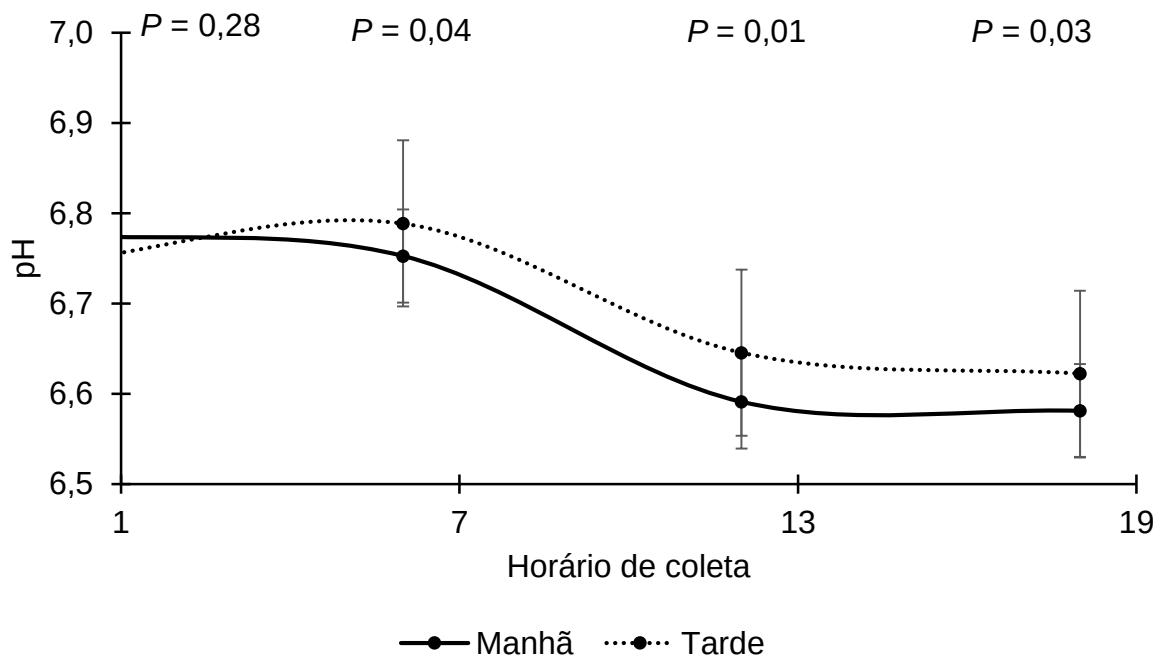


Figura 4. Valores de pH, ao longo do tempo de coleta, em bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação na recria.

A concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no fluido ruminal teve tendência na interação entre horário de suplementação e horário de coleta, em que as 13:00 e 19:00 horas teve diferenças significativas. Animais suplementados no período da manhã tiveram 5 e 4% concentrações total de AGCC maiores na coleta das 13:00 e 19:00 horas respectivamente em relação aos animais suplementados no período da manhã (Figura 5).

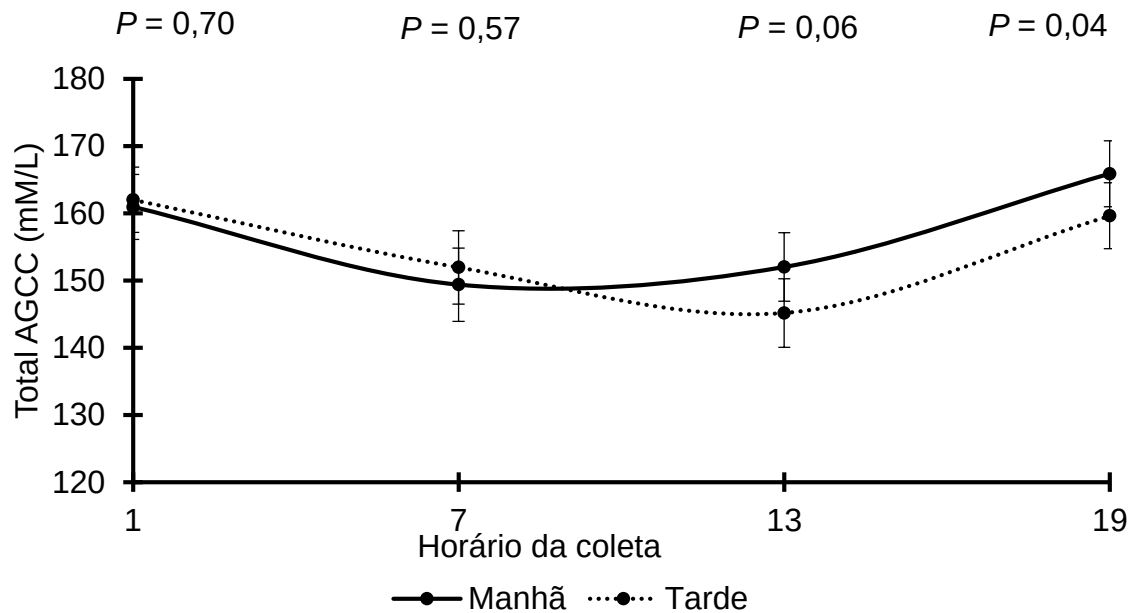


Figura 5. Concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, ao longo do tempo de coleta, em bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação na recria. Interação horário de suplementação e horário de coleta e hora ($P = 0,08$).

Apenas na coleta das 13:0 horas houve diferença ($P = 0,03$) nas concentrações de acetato entre horário de coleta e fonte de nitrogênio não proteico, onde animais recebendo suplementação com ureia apresentaram 2% maiores concentrações de acetato (Figura 6).

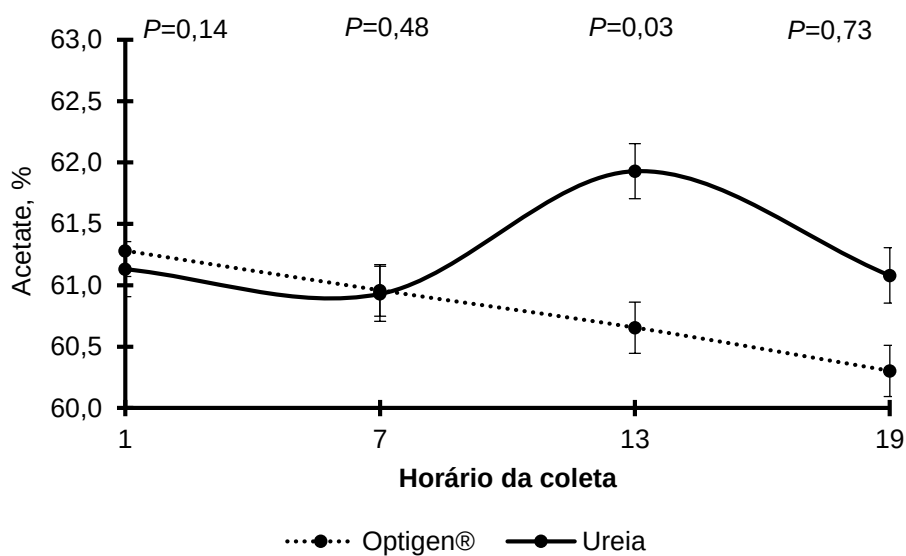


Figura 6. Valores de acetato, ao longo do tempo de coleta, em bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação na recria. Interação fonte de nitrogênio não proteico e horário de coleta ($P = 0,07$).

Houve interação nas concentrações de isovalerato entre horário de suplementação e horário de coleta do fluido ruminal ($P = 0,03$). Apenas 7:00 horas houve diferença significativa, onde animais recebendo suplementação no período da tarde apresentaram 8% maiores concentrações de isovalerato ($P = 0,03$, Figura 7), quando comparados aos animais suplementados no período da manhã.

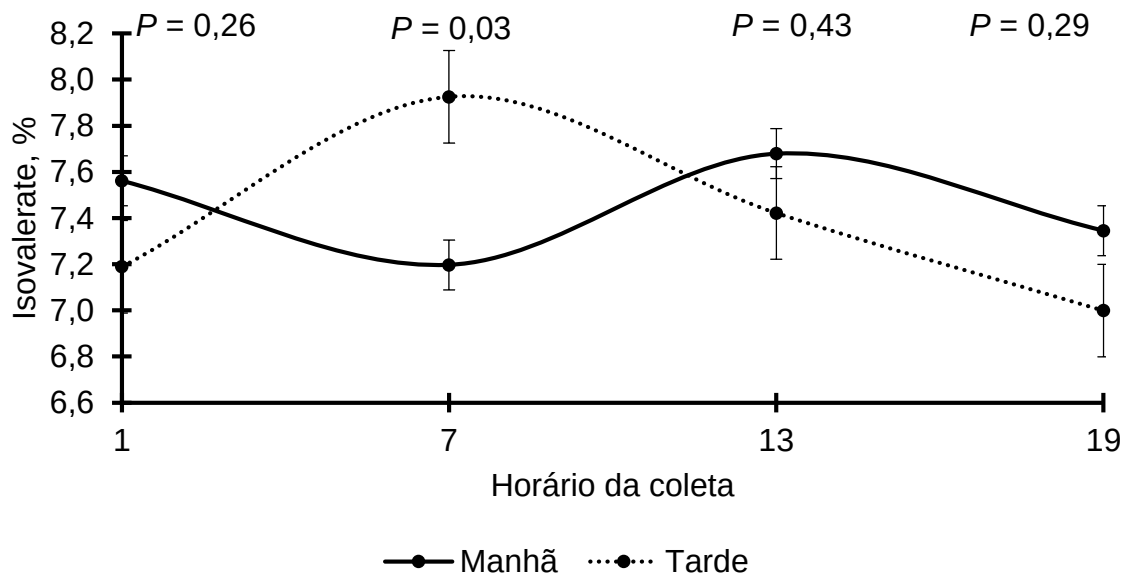
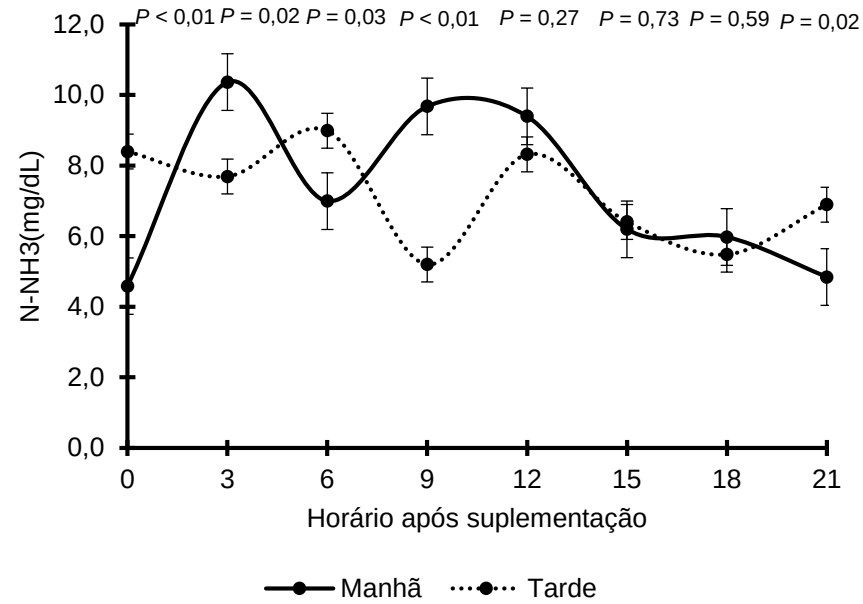
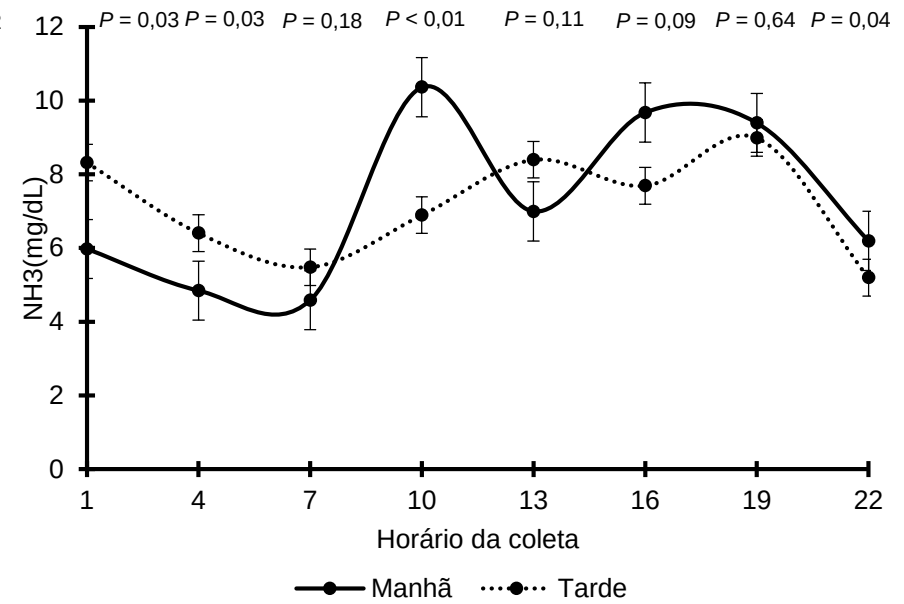


Figura 7. Valores de isovalerato ao longo do tempo de coleta, em bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação na recia.

Nas horas zero, seis e vinte e uma após a suplementação, os valores de $N-NH_3$ ruminal dos animais suplementados no período da tarde foram, respectivamente, 45, 12 e 30% superiores aos do grupo suplementados de manhã ($P = 0,01$). Três e nove horas após suplementação o comportamento inverteu, sendo que animais suplementados no período da tarde tiveram, respectivamente, 45 e 12% maiores concentrações de $N-NH_3$ ($P \leq 0,02$; figura 8 a).



a)



b)

Figura 8. Valor de N-NH_3 , ao longo do tempo de coleta, em bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação na recria.

Na figura 8 b, estão apresentados os efeitos de horários de coleta e horários de suplementação, em que animais suplementados no período da tarde apresentam concentrações de N-NH₃ ruminal superior nos horários 1:00 e 4:00 horas apresentando superioridade de 28 e 24%, respectivamente. Enquanto que animais suplementados no período da manhã apresentaram concentrações de N-NH₃ ruminal de 34% superior no horário das 10:00 horas e 21 e 16% nos horários de 16:00 e 22:00 horas.

As concentrações séricas de glicose, ureia e creatinina sanguíneas, não sofreram efeito da interação das fontes de nitrogênio não proteico em diferentes horários de suplementação ($P \geq 0,38$; Tabela 5). As concentrações plasmáticas de proteína nos animais suplementados às 13:00 h foram maiores ($P = 0,01$), quando comparados aos animais suplementados. Às 7:00 h. Houve tendência dos animais suplementados com ureia de liberação controlada e no período da manhã apresentarem menores concentrações plasmáticas de proteína no sangue ($P = 0,09$).

Tabela 5- Concentrações plasmáticas de variáveis sanguíneas de bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação

Fonte (F) Horário suplementação (H)	Ureia		Optigen®		EPM ¹	P valor ²			
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde		F	H	Coleta	F×H
N uréico, mg/dl	13,0	12,9	13,7	13,7	1,06	0,22	0,99	0,34	0,93
Proteína, g/L	59,3a	60,6a	55,6b	62,3a	2,64	0,49	0,01	0,16	0,09
Glicose, mg/dl	63,6	59,4	58,5	59,4	3,01	0,38	0,57	0,12	0,38
Creatinina, µmol/L	351	351	351	351	0,13	0,67	0,10	0,46	0,96

¹Erro padrão da média. ²As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \leq 0,10$. As interações F x coleta, horário x coleta e fonte x horário x coleta foram consideradas no modelo, apenas houve diferença para interação horário x coleta na variável Glicose, mg/dl ($P = 0,01$) e tendência no N uréico, mg/dl ($P = 0,08$), as demais variáveis não apresentaram efeito significativo ($P > 0,13$)

A concentração plasmática de glicose teve efeito de interação entre horário de suplementação e horários de coletas ($P < 0,01$), como mostrado na Figura 9 a,b. A concentração de glicose nos animais na coleta de 0 horas foi 9% superior nos animais suplementados de manhã, enquanto que na coleta de quatro horas após suplementação animais suplementados no período da tarde tiveram 8% maiores concentrações de glicose ($P = 0,02$).

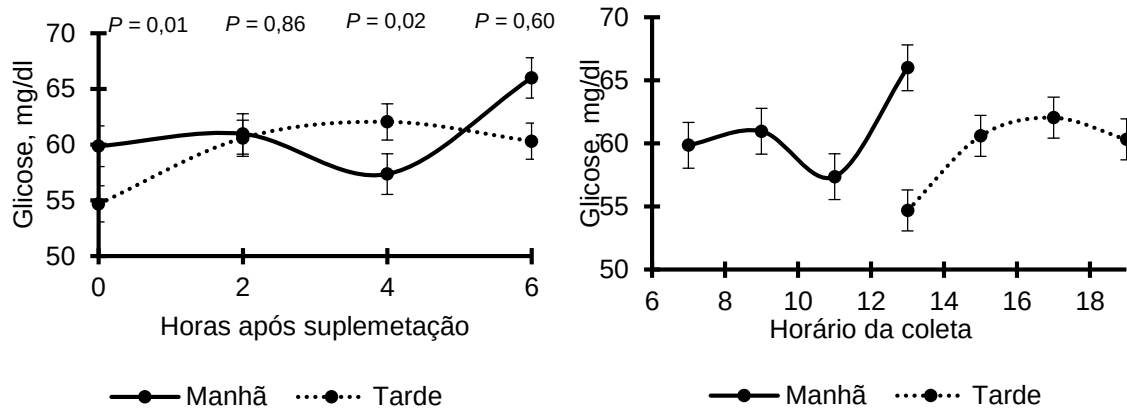


Figura 9. Valores de glicose plasmática mg/dl, ao longo do tempo de coleta, em bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação na recria.

A concentração de N uréico duas horas após suplementação tendeu a ser 11% superior para animais suplementados no período da manhã ($P = 0,07$; Figura 10 a,b).

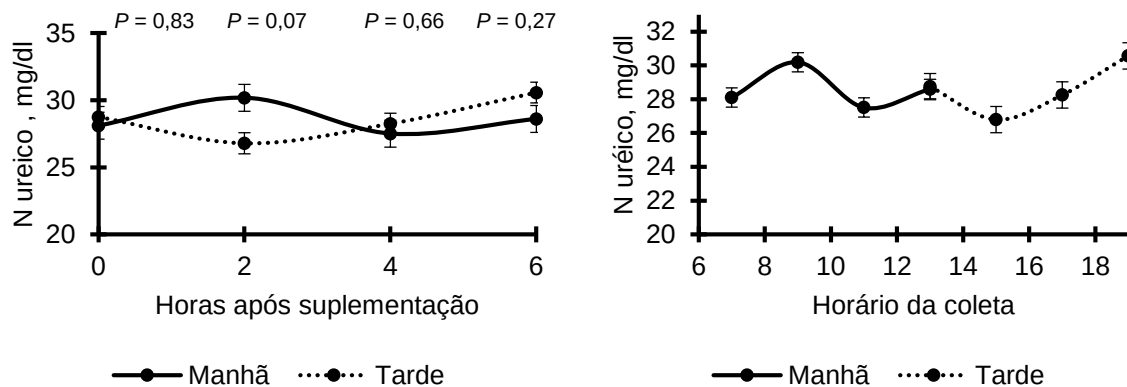


Figura 10. Valores de N uréico, ao longo do tempo de coleta, em bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação na recria. Interação horário de suplementação e horário de coleta ($P = 0,08$).

Na tabela 6 está apresentado as variáveis urinárias e síntese de nitrogênio microbiano. Não foi observado efeitos em nenhum dos parâmetros ($P > 0,28$). A produção média de síntese de nitrogênio microbiano foi de 291g por dia.

Tabela 6: Parâmetros urinários e síntese de nitrogênio microbiano de bovinos Nelore suplementados com fontes de nitrogênio não proteico durante a estação seca em diferentes horários de suplementação

Fonte (F) Horário suplementação(H)	Ureia		Optigen®		EPM ¹	P valor ²		
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde		F	H	F×H
Peso Corporal, kg	524	527	520	528	36,7	0,79	0,28	0,55
Alantoína, mmol/dia	433	432	389	464	61,8	0,86	0,28	0,28
Ácido Úrico, mmol/dia	26,7	27,2	26,6	26,6	2,45	0,61	0,73	0,78
DP, mmol/dia	459	459	416	490	67,7	0,86	0,28	0,28
PA, mmol/dia	533	533	479	571	83,9	0,86	0,28	0,28
Nmic g/dia	293	293	263	314	46,1	0,86	0,28	0,28

¹Erro padrão da média. ²As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \leq 0,10$. ³DP= Derivado de purina,

⁴PA=purinas absorvidas, ⁵Nmic=Nitrogênio de origem microbiana.

4. DISCUSSÃO

O aumento da disponibilidade de matéria verde na pastagem ao longo dos períodos experimentais fez com que os animais diminuíssem o tempo gasto em pastejo, o contrário ocorre quando o pasto apresentava menor disponibilidade de matéria seca (primeiro período). Isso ocorre devido à dificuldade dos animais na seleção apenas por folhas verdes no dossel, dado a proximidade da sua boca no momento do pastejo com a forragem morta disponível (NRC, 1996). Neste experimento, era esperado que os animais tivessem diferença no tempo de pastejo, devido o horário de fornecimento de suplemento (Adams, 1985; Krysl e Hess, 1993; Pardo, 2003). Animais suplementados no período da manhã em que os animais têm o primeiro pico de pastejo onde as temperaturas normalmente são mais amenas (Roth et al., 2013). Porém, quando foi estudado o comportamento de pastejo foi observado que quando os tratadores chegavam para suplementar tanto no período da manhã ou da tarde os animais tinham um estímulo em que todos os animais chegavam até o cocho. Eles chagavam todos até o cocho, mesmo que não fossem o horário. Esse pode ser o motivo pelo qual não houve diferenças entre os tratamentos.

A menor concentração de N-NH_3 nas horas após a suplementação dos animais que receberam o suplemento no período da tarde pode ser indicativo de um melhor uso do nitrogênio e a degradação da forragem no rúmen. Os níveis de N-NH_3 se relacionam diretamente com a oferta de proteína bruta (Rihani et al., 1993, Huntington et al., 1997) e indiretamente com a de carboidratos não fibrosos (Pordomingo et al., 1991; Hess et al., 1994).

Outro ponto que pode ser destacado é que a média de ganho de peso encontrado nesse experimento (0,623 kg), mostra que o fornecimento dos suplementos não limitou o ganho de peso e o uso da forragem. Fernandes et al. (2017) encontraram GMD de 0,563 kg em animais alimentados com suplemento proteico energético com diferentes taxas de degradação proteica recriados em pastagem capim Marandu na transição seca-águas. Nesse mesmo experimento o valor mínimo encontrado de N-NH_3 foi de 14,96 e máximo de 20,05 mg/dL, valores esses bem mais altos dos encontrados para esse experimento.

Animais suplementados no período da tarde tiveram menor concentração de ureia sanguínea nos primeiros horários após suplementação, sendo que o aumento de nitrogênio no sangue é um indicativo de excesso de nitrogênio amoniacal no rúmen. Em ruminantes, mais de 60% da ureia plasmática se origina do metabolismo da amônia no rúmen. Uma segunda fonte de ureia produzida pelo fígado é a partir da deaminação e metabolismo de aminoácidos circulantes, decorrentes do consumo de proteína não degradável, da proteína microbiana (Butler, 1998). A quantidade de amônia produzida e a quantidade que escapa para conversão em ureia no fígado refletem os níveis de consumo de proteína degradável dietética e a viabilidade de carboidratos fermentáveis para suportar crescimento microbiano e síntese de proteína (Butler et al., 1995). Para Broderick (1995), a concentração elevada de ureia plasmática está relacionada com utilização ineficiente da proteína bruta da dieta. Segundo Staples et al. (1993), o nitrogênio ureico plasmático não é bom indicador do consumo de proteína, mas pode ser bom indicador da proteína não utilizada.

De acordo com Valadares et al. (1997), bovinos suplementados com 45% de concentrado e teores de 7 a 14,5% de proteína bruta, observaram por regressão que a produção máxima de proteína microbiana correlaciona com concentrações de ureia plasmática e varia de 13,5 a 15,2 mg/dl que a partir desse limite pode estar ocorrendo perda, os valores desse experimento foram entre 12,5 e 14,2 mg/dl.

O processo de desaminação também é uma fonte de aumento das concentrações de N-NH_3 no rúmen, em que os produtos peptídeos e aminoácidos gerados pela hidrólise da proteína dietética, podem adequando e liberar no rúmen N-NH_3 , assim como ocorre com a ureia endógena e dietética (Van Soest, 1994). Esses aminoácidos também podem ser utilizados para a síntese de proteína microbiana, entretanto, grande parte dos microrganismos utiliza a amônia ruminal para a síntese de seus aminoácidos. Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) ramificado, caso do isobutírico, valérico e isovalérico (maiores em animais suplementados com Optigen®) especificamente são oriundos da desaminação ruminal dos aminoácidos valina, prolina e isoleucina, respectivamente, caracterizando assim, os estudos das concentrações destes AGCC, como um meio de obter informações a respeito da degradabilidade ruminal das proteínas da dieta (Van Soest, 1994; McDonald et al., 2011; Oh et al., 2015).

O pH ruminal tende a cair após a alimentação, chegando ao seu menor valor em torno de quatro a seis horas após a alimentação e reflete o balanço entre as taxas de produção e absorção dos ácidos graxos de cadeia curta, o influxo de tampões por meio da saliva e a presença ou liberação de tampões ou bases do alimento. Apesar das diferenças entre os tratamentos, todos os valores de pH ruminal obtidos estão acima do limite de 6,2 estabelecido para que não haja comprometimento na digestão ruminal da fibra e consequentes problemas metabólicos no animal (Gabel e Aschenbach, 2006).

5. CONCLUSÃO

As fontes de nitrogênio e horários de suplementação nesse experimento não afetam o comportamento ingestivo e desempenho dos bovinos. Alguns parâmetros foram alterados.

6. REFERÊNCIAS

Adams DC (1985) Effect of time of supplementation on performance, forage intake and grazing behavior of yearling beef steers grazing Russian wildryegrass in the fall. **Journal of Animal Science** 61:1037-1042.

Broderick GA (1995) Use of milk urea as indicator of nitrogen utilization in the lactating dairy cow. In: U.S. Dairy Forage Center 1995 Research Summaries. U.S. Department of Agriculture, **Agricultural Research Service**. 122p.

Brody T (1993) Nutritional biochemistry. San Diego: Academic Press. 658p

Butler WR (1998) Symposium: optimizing protein nutrition for reproduction and lactation. **Journal Dairy Science** 81:2533-2539.

Butler WR, CHerney DJR, Elrod CC (1995) Milk urea nitrogen (mun) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Cornell University, Ithaca, NY.

Costa e Silva LF, Valadares Filho SC, Chizzottill ML; Rotta PP, Prados LF, Valadares RFD, Zanettil D, Silva Bragal JM (2012) Creatinine excretion and relationship with body weight of Nellore cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia* vol.41 no.3.

Chizzotti ML, Valadares Filho SC, Valadares, RFD, Chizzotti FHM, Tedeschi LO (2008) Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Livestock Science*, 113, 218-225.

Chen XB, Gomes MJ (1992) Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. Aberdeen, UK: International Feed Resources Unit, Rowett Research Institute.

De Vries MFW (1995) Estimating forage intake and quality in grazingcattle: A reconsideration of the hand-plucking method. **Journal of Range Management** 48:370–375. <https://doi.org/10.2307/4002491>.

Detmann E, Paulino MF, Mantovani HC, Valadares Filho SC, Sampaio CB, Souza MA, Lazzarini I, Detmann KSC (2009) Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science** 126:136-146.

Erwin ES, Marco GJ, Emery EM (1961) Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science** 44:1768-1771.

Fernandes RM, Almeida CM, Carvalho BC, Alves Neto JA, Mota VAC, Resende FD, Siqueira GR (2016) Effect of supplementation of beef cattle with different protein levels and degradation rates during transition from the dry to rainy season. **Tropical Animal Health** 48:95-101.

Fujiyama T, Ørskov ER, Reeds PJ, Kyle DJ (1987) The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *The Journal of Agricultural Science*, 109, 7–12

Gabarra PR (2001) **Digestibilidade de nutrientes e parâmetros ruminais e sanguíneos de novilhos Nelore alimentados com fontes protéicas e energéticas com diferentes degradabilidades ruminais**. 109 f. Dissertação (Mestrado Agronomia).

Gabel G, Aschenbach JR (2006) Ruminant SCFA absorption: channeling acids without harm. In: Serjensen K, Hvelplund T, Nielsen MO (eds.) **Ruminant physiology**. Wageningen Academic. p.173-198.

Goering HK, Van Soest PJ (1970) Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA.

Harmeyer J, Martens H (1980) Aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. **Journal of Dairy Science** 63:1707-1728.

Hess BW, Park KK, Krysl LJ, Judkins MB, McCracken BA, Hanks DR (1994) Supplemental protein for beef cattle grazing dormant intermediate wheat grass pasture: Effects on nutrient quality, forage intake, digesta kinetics, grazing behavior, ruminal fermentation and digestion. **Journal Animal Science** 72:2113-2123.

Hughes GP, Reid D (1951) Studies on the behavior of cattle and sheep in relation to utilization of grass. **Journal Agricultural Science** 41:350-355.

Huntington GB (1997) Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal animal. Science** 75:852-867.

Kerr MG (2003), Exames laboratoriais em medicina veterinária: Bioquímica clínica e hematologia, (In Portuguese,) 2nd ed, Roca, São Paulo, Brazil.

Lazzarini I, Detmann E, Sampaio CB, Paulino MF, Valadares Filho SC, Souza MA, Oliveira FA (2009) Intake and digestibility in cattle fed lowquality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38:2021-2030.

Machado MG, Detmann E, Mantovani HC, Valadares Filho SC, Bento CBP, Marcondes MI, Assunção AS (2016) Evaluation of the length of adaptation period for changeover and crossover nutritional experiments with cattle fed tropical forage-based diets. **Animal Feed Science and Technology** 222-132–148.

Mcdonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA, Sinclair LA, Wilkinson RG (2011). Animal nutrition. Prentice Hall 692 p.

Molan LK (2004) **Estrutura do dossel, interceptação luminosa e acúmulo de forragem em pastos de capim-Marandu submetidos a alturas de pastejo por meio de lotação contínua.** Piracicaba 180p, Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba.

Moretti MH, Resende FD, Siqueira GR, Roth APTP, Custodio L, Roth MTP, Campos WC, Ferreira LH (2013) Performance of Nellore young bulls on Marandu grass pasture with protein supplementation. **Revista Brasileira de Zootecnia** 42:438-446.

Mott GO, Lucas HL (1952) The designs conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, Pennsylvania. Proceedings... Pennsylvania: State College Press, p.1380-1385, 1952.

National Research Council – NRC (1985) Ruminant nitrogen usage. Washington D.C. 138p.

National Research Council – NRC (1996) Nutrient Requirements of Beef Cattle. Washington, D.C. National Academy of Sciences, 7 ed., 242 p., 1996.

Nocek J, Russell JB (1988) Protein and carbohydrate as an integrated system. Relationship of ruminal availability to microbial contribution and milk production. **Journal Dairy Science** 71:2070-2107.

Noel RJ, Hambleton LG (1976) Collaborative study of a semiautomated method for determination of crude protein in animal feeds. **Journal - Association of Official Analytical Chemists** 59:134–140.

Oba M, Allen MS (2003) Effects of Corn Grain Conservation Method on Feeding Behavior and Productivity of Lactating Dairy Cows at Two Dietary Starch Concentrations. **Journal of Dairy Science** 86:174-183.

Oh YK, J. S. Eun JS, Lee SC, Mestre SHU, Lee SS, Lua YH (2015) Respostas da glicemia, insulina, glucagon e ácidos graxos à infusão intraruminal de propionato em hanwoo. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 28:200-206.

Paulino MF, Detmann E, Valente EEL, Barros LV (2008) Nutrição de bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 4, 2008, Viçosa. **Anais...** p.131-169. 2008.

Pina DS, Valadares RFD, Valadares Filho SC, Chizzotti ML (2010) Degradação ruminal da proteína dos alimentos e síntese de proteína microbiana. In: Valadares Filho SC, Marcondes MI, Chizzotti ML, Paulino PVR (Eds.) Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados – BR-CORTE. 2 ed. Viçosa, MG: Suprema Gráfica, pg.013–046.

Poppi DP, Quigley SP, Correa TA, Mclennan SR (2018) Challenges of beef cattle production from tropical pastures. **Revista Brasileira de Zootecnia** 47:e20160419.

Pordomingo AJ, Wallace JD, Freeman AS et al (1991). Supplemental corn grain for steers grazing native rangeland during summer. **Journal Animal Science** 69:1678-1687.

Reis RA, Rodrigues LRA, Pereira JRA (1997) Suplementação como estratégia para o manejo das pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DAS PASTAGENS **Anais...** Piracicaba: Piracicaba, FEALQ, p123-150.

Rihany N, Garret WN, Zinn RA (1993) Influence of level of urea and method of supplementation on characteristics of digestion of higher-fiber diets by sheep. **Journal Animal Science** 71:1656-1665.

Robertson JB, Van Soest PJ (1981) The detergent system of analysis and its application to human foods. In: JAMES, W.P. T.; THEANDER, O. (Eds.) The analysis of dietary fiber in food. New York: Marcel Dekker, p.123-158.

Roth MTP, Resende FD, Siqueira GR, Fernandes RM, Custodio L, Roth APTP, Moretti, MH, Campos WC (2013) Supplementation of Nellore young bulls on Marandu grass pastures in the dry period of the year. **Revista Brasileira de Zootecnia** 42:447-455.

Russell JB, O'Connor JD, Fox DG, Van Soeste PJ, Sniffen CJ (1992) A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science** 70:3551-3561.

Sampaio CB, Detmann E, Lazzarini I, Souza MA, Paulino MF, Valadares Filho SC (2009) Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira Zootecnia** 38:560-569.

Santos FAP, Pedroso AM (2011) Metabolismo de proteínas. In: Berchielli, T.T; Pires, A.V; Oliveira, S.G. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, ed 2, p.265- 292.

Satter LD, Slyter LL (1974) Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production "in vitro". **British Journal of Nutrition** 32:199.

Sollenberger LE, Cherney DJR (1995) Evaluating forage production and quality. In: Barnes RF, Miller DA, Nelson CJ. **Forages: the science of grassland agriculture** 97-110.

Staples CR, Garcia-Bojalil CM, Oldick BS, Thatcher WW, Risco CA (1993) et al. Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism and a blood and milk urea measurements. In: ANIMAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 4. 1993. Gainesville. Proc... Gainesville: University of Florida. 1993. p.37-52.

Susmel P, Stefanon B, Plazzotta E, Spanghero M (1994) The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **The Journal of Agricultural Science** 123:257-266.

Valadares Filho SC, Pina DS (2011) Fermentação Ruminal. In: Berchielli, T.T; Pires, A.V; Oliveira, S.G. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, ed 2, p.161- 189.

Valadares RFD, Gonçalves LC, Rodriguez NM, Valadares Filho SC, Sampaio IB (1997) Protein levels in cattle diets; 4: ruminal ammonia N concentration, plasma urea N, and urea and creatinine excretions. **Revista Brasileira de Zootecnia** 26:1270-1278.

Van Soest PJ (1994) Nutritional ecology of the ruminant. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

Verbic J (2002) Factors affecting microbial protein synthesis in the rumen with emphasis on diets containing forages. **Viehwirtschaftliche Fachtagung** 24: 1-6..

CAPÍTULO 3: INCLUSÃO DE FONTE PROTÉICA E ÓLEO ESSENCIAL NO DESEMPENHO, PARÂMETROS RUMINAIS E SANGUÍNEOS DE TOURINHOS NELORE EM PASTO DE CAPIM MARANDU

RESUMO - No Brasil, o uso de suplementos para bovino em pastagem no verão vem aumentando a cada ano e conseqüentemente, cresce a demanda por tecnologias que melhorem a eficiência do uso de suplementos em pastagem. O objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho e metabolismo de bovinos Nelore no período das águas, recebendo suplementos (3 g/kg de PC) contendo fonte de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®] com ou sem óleo essencial [Cinnagar®]. Na avaliação de desempenho foram utilizados 120 bovinos Nelore, com peso corporal de 289 ± 33 kg e 16 meses de idade, distribuídos em 20 piquetes de 3 ha cada, correspondendo a 6 animais por piquete, composto por pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. O método de pastejo foi o de lotação contínua com taxa de lotação variável. A duração foi de 133 dias, 21 dias de adaptação e quatro períodos de 28 dias. Além destes, 4 piquetes foram destinados para avaliação de parâmetros ruminais e sanguíneos, sendo três quadrados latinos simultâneos (3 quadrados latinos 4×4). Cada período teve duração de 21 dias onde, do dia 1º ao 10º foi adaptação aos tratamentos. Amostras de sangue foram coletadas, em cada período, no tempo zero (antes da suplementação) e 2, 3 e 6 horas após a suplementação. As concentrações séricas de glicose, proteína, ureia e creatinina foram mensuradas. O fluido ruminal foi coletado em cada período de avaliação, por meio da fistula no rúmen, respeitando a cronologia de 0, 6, 12 e 18 horas após a suplementação. Nas amostras de fluido ruminal foram mensurados o pH, a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e de ácidos graxos de cadeia curta. Os 4 tratamentos foram em esquema fatorial de 2 fontes de proteína verdadeira e com ou sem óleo essencial, aplicado em delineamento de blocos completos aleatorizados. Não houve influência dos tratamentos e suas interações no ganho médio diário (GMD) ($P > 0,45$) e no peso corporal inicial e final ($P > 0,22$). O GMD foi de 0,921 kg. Animais suplementados com Cinnagar® apresentaram concentração de nitrogênio ureico no sangue 22% maior em relação aos animais não suplementados. As concentrações de proteína e creatinina não foram influenciadas pelos tratamentos e interações. A maior concentração de glicose foi observada nos tratamentos com SoyPass® e presença de óleo essencial (Cinnagar®), sendo que o farelo de soja apresentou concentração intermediária entre os tratamentos. A maior concentração de glicose foi de 3,69 mmol/L. Em conclusão, a suplementação com fontes de proteína verdadeira e óleo essencial não afetam o desempenho de bovinos Nelore em pastagens nas águas, porem afetam alguns parâmetros metabólicos ligados ao metabolismo de nitrogênio.

Palavras-chave: amônia, Cinnagar®, farelo de soja, PNDR

INCLUSION OF PROTEIN SOURCE AND PLANT EXTRACT IN PERFORMANCE, RUMINAL AND BLOOD PARAMETERS OF NELLORE CATTLE IN PASTURE IN THE RAINY SEASON

ABSTRACT - In Brazil, the use of supplements for grazing livestock in the rainy season is increasing every year and, consequently, the demand for technologies that improve the efficiency of the pasture use. The objective of this study was to evaluate the performance and metabolism of Nellore cattle in the rainy season, receiving supplements (3 g/kg body weight) containing true protein source (soybean meal or soybean meal treated [Soypass BR] with or without a plant extract [Cinnagar®]). For performance evaluation, 120 Nellore steers with body weight of 289 ± 33 kg and 16 months of age were used, distributed in 20 paddocks of 3 ha each, corresponding to 6 animals per paddock. The experiment lasted 133 days, 21 days of adaptation and four periods of 28 days. For the evaluation of ruminal and blood parameters, with three simultaneous Latin squares 4×4 , lasting 21 days. From 1st to 10th day, was adapted to the treatments. Blood samples were collected in each period at time zero (before supplementation) and 2, 3 and 6 hours after supplementation. Glucose, protein, urea and creatinine concentrations were measured in the blood. The ruminal fluid was collected at 0, 6, 12 and 18 hours after the supplementation. In the ruminal fluid samples, the pH, the concentration of ammoniacal nitrogen (N-NH₃) and volatile fatty acids were measured. The pH measurements were performed immediately after collection. Data were analyzed using the PROC MIXED of SAS, the averages compared by the t-test and the differences considered from the $P < 0.05$, trends were discussed when $0.05 \geq P \leq 0.10$. There was no influence of treatments and their interactions on average daily gain (ADG) ($P > 0.45$) and final body weight ($P > 0.22$). The ADG was 0.921 kg. The concentration of plasma nitrogen was influenced by the presence of essential oil ($P = 0.03$). Animals supplemented with Cinnagar® presented 22% greater concentration of urea nitrogen in the blood compared to non-supplemented animals. Protein and creatinine concentrations were not influenced by treatments and interactions. The concentration of glucose showed a significant difference in the interaction between sources of true protein and addition of essential oil ($P < 0.01$). The highest concentration of glucose was observed in the SoyPass® and presence of essential oil (Cinnagar®) treatments, and the soybean meal showed intermediate concentration between the treatments. The highest glucose concentration was 3.69 mmol/L. In conclusion, supplementation with sources of true protein and essential oil do not affect the performance of Nellore cattle in pastures in the waters, but affect some metabolic ratios linked to nitrogen metabolism.

Keywords: Cinnagar®, PNDR, soybean

1. INTRODUÇÃO

Estratégias nutricionais, devem dar suporte para que os animais obtenham elevadas taxas de ganho de peso, mantendo regularidade na curva de crescimento em todas as fases do processo, para que o objetivo principal da bovinocultura moderna, redução do ciclo, seja atingido.

No período das águas, as forrageiras atingem o máximo de disponibilidade e valor nutritivo (Euclides et al., 2001; Moretti et al., 2013). A proteína é um dos nutrientes de maior custo nos suplementos, contudo desempenha um papel importante na nutrição de ruminantes, pois além de fornecer aminoácidos para o animal, é também uma fonte de nitrogênio para a síntese de proteína microbiana (Nocek e Russell, 1988).

Para animais em crescimento, em que a demanda por proteína é alta para síntese de proteína muscular, garantir apenas a capacidade de síntese de proteínas microbianas, na maioria das vezes, não é suficiente para atender às exigências proteicas de animais jovens em sistemas de produção, pois não fornece aminoácidos suficientes para promover o máximo ganho de peso. Portanto, atenção especial deve ser dada à proteína não degradada no rúmen (PNDR). Quanto menor a degradação da proteína no rúmen, sem prejudicar a produção de proteína microbiana, menor é a produção de amônia e, conseqüentemente, menores são as perdas de ureia na urina (Kertz, 2010). Isto ocorre porque a maior parte da amônia não utilizada pelos microrganismos é absorvida pela parede ruminal e transportada para o fígado onde é convertida à ureia.

O objetivo de alcançar a eficiência de utilização do nitrogênio é essencial, uma vez que a produção animal, tem sido identificada como um dos contribuidores da poluição ambiental. O nitrogênio excretado na urina representa mais da metade de todo o nitrogênio excretado e é rapidamente convertido em amônia por ureases microbianas do meio (Tamminga, 1992). A amônia pode ser volatilizada para a atmosfera, causar acidificação dos solos, poluição por nitratos em lençóis de água subterrânea e eutrofização dos rios, lagos e estuários (Galloway, 2002).

O uso de aditivos alimentares e/ou alimentos protegidos de degradação ruminal podem diminuir a excreção excessiva de nitrogênio por ruminantes. Esses podem afetar o metabolismo de nitrogênio ruminal, como degradação de proteína bruta e

eficiência de síntese de proteína microbiana e fluxo de nitrogênio dietético do rúmen ao duodeno. Além disso óleos essenciais podem ser substâncias naturais promissoras para mitigar produção de metano e amônia no rúmen, melhorar as fermentações no rúmen, e reduzir o impacto ambiental da produção de ruminantes (Cobellis et al., 2016).

Óleos essenciais têm mostrado serem uma fonte promissora de compostos capazes de afetar a quebra de proteínas no rúmen e fluxo de proteína para o intestino delgado do animal. Estudos demonstraram que estes compostos podem inibir a proteólise, peptidólise e desaminação de aminoácidos, afetando algumas populações microbianas responsáveis para digestão de proteínas alimentares (Cobellis et al., 2016). Suplementos contendo componentes, como extratos de alho e canela mostraram melhora na fermentação ruminal, aumentando a proporção de propionato em relação ao acetato e diminuindo a degradabilidade ruminal de proteínas alimentares, respectivamente (Busquet et al., 2005; Yang et al., 2010).

Outra forma de aumentar esse fluxo de PNDR é proteger parte da proteína dietética para que não ocorra degradação ruminal (Atkinson et al., 2007, Mezzomo et al., 2016). O tratamento das fontes proteicas das dietas com vários agentes como o calor, NaOH, tanino, formaldeído e outros, visam diminuir a degradabilidade da proteína no rúmen com mínimo prejuízo da digestibilidade total para o ruminante.

Neste contexto, definiu-se como objetivo, avaliar os efeitos de fonte de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®] com ou sem óleo essencial [Cinnagar®] sobre desempenho, e parâmetros ruminais e sanguíneos de bovinos em crescimento em pastagens de capim Marandu no período das águas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de acordo com as regras do bem-estar animal, aprovado pelo comitê de Ética da FCAV/Unesp/Jaboticabal-SP, Brasil (número 15471/15), conforme a lei número 11977 do Estado de São Paulo, Brasil (São Paulo, 2005).

Local e dados climáticos.

O experimento foi realizado no Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana (PRDTA – Alta Mogiana) em Colina – SP, Brasil de janeiro a maio de 2016. A precipitação pluvial anual média é de 1.304 mm. Na Figura 1 estão os dados de precipitação e temperatura observados durante o período experimental.

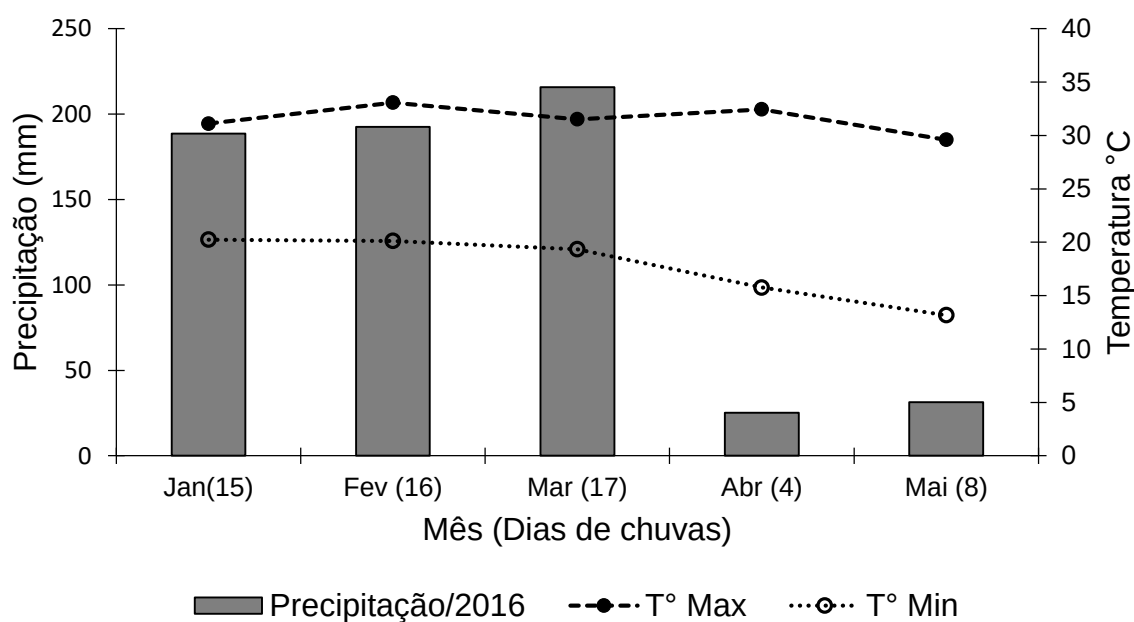


Figura 1. Dados climáticos (precipitação e temperatura máxima e mínima) durante os períodos experimentais registrados no município de Colina - SP.

Delineamento e tratamentos.

Os 4 tratamentos foram divididos em um arranjo fatorial 2×2 : sendo duas fontes de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®] com ou sem presença de óleo essenciais [Cinnagar®].

Tratamentos:

- 1- Suplementação proteico energética, 3 g/kg PC, com farelo de soja sem presença de óleos essenciais
- 2- Suplementação proteico energética, 3 g/kg PC, com farelo de soja e presença de óleos essenciais
- 3- Suplementação proteico energética, 3 g/kg PC, com farelo de soja tratado [Soypass BR®] sem presença de óleos essenciais
- 4- Suplementação proteico energética, 3 g/kg PC, com farelo de soja tratado [Soypass BR®] e presença de óleos essenciais

O suplemento foi proteico energético contendo 33% de proteína bruta (PB), 15% de fibra em detergente neutro, 5% de fibra em detergente ácido, 4% de extrato etéreo e composto por milho moído (21%), farelo de soja ou Soypass® (24%), farelo de trigo (20%), refinazil (15%) minerais e vitaminas (20%).

Estudo 1- Desempenho***Animais e método de pastejo.***

A pesquisa foi desenvolvida utilizando 120 tourinhos da raça Nelore, não castrados (16 meses de idade média e 289 ± 33 kg de peso corporal inicial), distribuídos em 20 piquetes de 3 ha cada, correspondendo a seis animais por piquete, composto por pastagem *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

O método de pastejo adotado foi o contínuo. Adotou-se um critério de oferta de massa e oferta de folhas semelhantes entre os tratamentos em cada estação. Para manter a oferta de forragem disponível semelhante e homogênea entre os piquetes foi utilizado o método “put and take” (Mott e Lucas, 1952), sendo utilizados animais oriundos da mesma desmama e alojados em piquetes anexo aos utilizados no experimento.

Avaliação de desempenho.

A duração foi de 133 dias, 21 dias de adaptação e quatro períodos de 28 dias. Os pesos corporais foram obtidos em procedimento padrão de pesagem de bovinos, após 16 horas de jejum de sólidos e água, no início e final de cada período experimental de 28 dias.

Avaliação quantitativa da forragem.

As estimativas da massa de forragem foram obtidas no último dia de cada período experimental pelo método de dupla amostragem (Sollenberger e Cherney, 1995). Na avaliação dos componentes quantitativos e estruturais do dossel forrageiro, foram coletadas amostras na altura média de cada piquete e divididas em quatro frações: caule verde, folha verde, caule morto / senescente e folha morta / senescente.

Análises químicas da forragem.

Na avaliação qualitativa, foram colhidas amostras pelo método de pastejo simulado (De Vries, 1995) em cada período experimental. Estas amostras foram secas a 55 ° C em estufa de circulação de ar forçada durante 72 h e depois moídas através de um moinho de facas Wiley para passar através de peneira de crivo de 1 mm e armazenadas para análise química. Os conteúdos de matéria seca (método 934.01), matéria mineral (método 942.05), proteína bruta (método 978.04) e extrato etéreo (método 920.39) foram medidos de acordo com as recomendações da AOAC (1995). O teor de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foi avaliado por análise sequencial descrita por Robertson e Van Soest (1981) utilizando um analisador de fibras TECNAL® TE-149 (Piracicaba, SP, BRA). A celulose foi solubilizada com ácido sulfúrico a 72% e o teor de lignina foi obtido como a diferença (Goering e Van Soest, 1970). Na tabela 1, estão apresentados os valores das características do pasto no período experimental.

Tabela 1. Características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro de capim Marandu

Fonte (F)	Farelo de soja		Soypass®		Períodos				EPM ¹	P valor ²			
Cinnagar (C)	Sem	Com	Sem	Com	1	2	3	4		F	C	FxC	Período
Características quantitativas													
Altura, cm	28,4	30,7	31,0	30,9	19,7d	34,8b	37,3a	29,3c	2,50	0,50	0,58	0,56	<0,01
Massa Forragem, Kg MS/ha	6357	6523	6820	6285	5398d	6198c	7348a	7040b	768	0,87	0,78	0,60	<0,01
Massa verde, Kg MS/ha	3884	4039	4152	4010	3589b	4411a	4655a	3520b	529	0,73	0,92	0,83	<0,01
Folha verde, Kg MS/ha	1935	1939	2019	1848	1942b	2385a	1654c	1760b	253	0,99	0,71	0,69	<0,01
Folha verde, %	31,8	31,6	31,4	31,6	36,4a	39,4a	24,0b	26,6b	1,70	0,90	0,99	0,92	<0,01
Colmo verde, %	29,8	30,3	30,0	29,9	30,2	29,5	36,0	24,2	1,08	0,91	0,86	0,79	<0,01
Folha Morta, %	21,6	21,7	21,7	21,9	21,5a	18,4b	22,9a	24,0a	0,76	0,95	0,91	0,99	<0,01
Colmo morto, %	18,1	17,8	17,6	18,0	12,5c	15,1b	17,0b	27,0a	1,52	0,90	0,98	0,80	<0,01
Oferta de forragem, kg MS/kg PC	3,99	3,63	4,17	3,50	3,65b	3,68b	4,14a	3,80a b	0,83	0,96	0,37	0,79	0,14
Taxa de lotação UA/ha	1,65	1,85	1,57	1,77	1,45b	1,75a	1,84a	1,81a	0,24	0,55	0,16	0,99	<0,01
Qualitativo/Pastejo Simulado													
Matéria mineral, % MS	7,01	7,06	6,80	7,11	6,24c	7,06a	7,49b	7,19a b	0,12	0,45	0,09	0,22	<0,01
Proteína bruta, % MS	7,33	7,24	7,41	7,30	7,16b c	7,65ab	7,82a	6,66c	0,26	0,74	0,63	0,98	<0,01
Extrato etéreo, % MS	1,64	1,38	1,47	1,42	1,48	1,48	1,47	1,48	0,10	0,55	0,14	0,29	1,00
FDN, % MS	68,9	70,3	69,5	70,3	67,2b	69,8a	70,6a	71,3a	0,72	0,55	0,14	0,64	<0,01
FDA, % MS	32,4	33,1	32,7	33,1	30,8c	32,4b	34,0a	34,0a	0,48	0,67	0,12	0,72	<0,01
Lignina, % MS	5,32	5,02	5,15	5,78	5,43c	4,84c	5,78a	5,21b	0,44	0,49	0,70	0,28	0,47
NIDA, % N Total	14,4	13,2	8,58	13,3	11,6b	8,55b	11,8b	17,5a	0,90	0,20	0,44	0,20	<0,01
NIDIN, % N Total	42,2	40,0	42,8	36,7	39,9	36,6	40,1	45,1	3,43	0,69	0,23	0,57	0,12
Digestibilidade, MS	73,4	78,6	76,2	78,4	80,9	81,9	70,9	72,9	2,18	0,56	0,12	0,51	<0,01

FDN= Fibra em detergente neutro, FDA=Fibra em detergente ácido, NIDA = Fibra indigestível em detergente ácido, NIDN = Fibra indigestível em detergente neutro.

Análise estatística – Estudo 1

Como o experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso com arranjo fatorial 2×2 , cada piquete foi considerado como unidade experimental e o PC inicial foi o critério adotado para a formação dos blocos (5 blocos, 5 piquetes / tratamento, 6 animais / piquete). Os dados foram analisados como um modelo misto, sendo considerado como efeitos fixos as fontes de farelo de soja e adição ou não de óleo essencial e suas interações, enquanto o bloco foi considerado aleatório no modelo.

Os dados foram submetidos à análise de variância como medidas repetidas ao longo do tempo, utilizando o REPEATED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Diferentes estruturas de covariância residual foram testadas para determinar a estrutura que melhor se ajusta a cada variável. A estrutura de covariância foi escolhida utilizando os critérios de informação Bayesiana (BIC), nos quais o menor valor de BIC foi usado como seleção.

Em todas as análises estatísticas, foi utilizado o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Diferenças foram consideradas significantes quando $P < 0,05$ enquanto tendência foi considerada quando $0,05 \leq P \leq 0,10$.

Estudo 2- Metabolismo

Animais

Nas avaliações dos parâmetros sanguíneos e ruminais, foram utilizados 12 bovinos canulados no rúmen com peso médio de 590 ± 50 kg. Os mesmos foram alocados em 4 piquetes, sendo três quadrados latinos simultâneos (3 quadrados latinos 4×4). Cada período teve duração de 21 dias, com 14 dias de adaptação para o consumo de suplemento (Machado et al., 2016).

Avaliações sanguíneas.

Amostras de sangue foram coletadas em cada período nos 19º e 20º dia, no tempo zero (antes da suplementação) e 2, 3 e 6 horas após a suplementação. Foram coletadas por meio de venopulsão da veia jugular em tubos Vacutainer® de 10 mL, contendo heparina sódica (Vacutainer Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Os

tubos Vacutainers foram homogeneizados e acondicionados, imediatamente após a venopunção, em recipientes refrigerados a 4 °C. As amostras foram centrifugadas a 1500 x g, por 20 min em temperatura ambiente, para a separação do plasma, conforme descrito por Kerr (2003), e as alíquotas foram armazenadas em tubos eppendorfs a -20 °C. As concentrações séricas de glicose, proteína, ureia e creatinina foram mensuradas por método colorimétrico utilizando kit enzimático (LaborLab®, São Paulo, Brasil). As análises foram determinadas em espectrofotômetro automático (Labmax pleno– lasbtest).

Avaliações ruminais

O fluido ruminal foi coletado no 18º dia de cada período de avaliação, por meio da fistula no rúmen, respeitando a cronologia de 0, 6, 12 e 18 horas após a alimentação. O material proveniente das regiões inferior, central e superior do interior do rúmen, foi coletado e acondicionado em panos de poliéster com porosidade de 0,5 mm, para que assim fosse filtrado, e o fluido originado foi então armazenado em recipientes adequados. Nas amostras de fluido ruminal, foram mensurados o pH, a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e de ácidos orgânicos. As mensurações de pH foram realizadas imediatamente após as coletas, por intermédio de pHmetro digital (MA522 model, Marconi Laboratory Equipment, Piaracicaba, SP, Brasil). Para a determinação de amônia ruminal, foi separada uma alíquota de 50 mL, acondicionada em recipiente de plástico contendo 1,0 mL de ácido sulfídrico (1:1), posteriormente foram centrifugadas a 4 °C e 1500 x g por 30 minutos e determinados em espectrofotômetro manual (FEMTO), conforme Noel e Hambleton (1976).

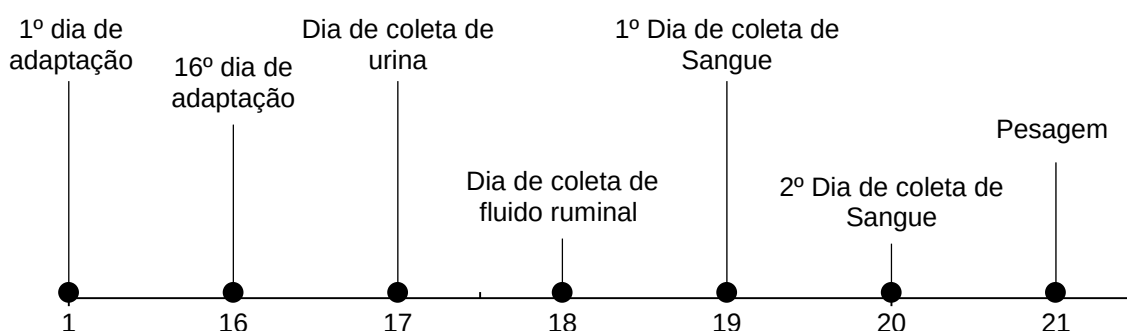
A determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram coletadas alíquotas de 5 mL em cada tempo amostral, armazenados em frascos contendo 1 mL de ácido fórmico e congeladas a -20 °C. As determinações foram feitas segundo método descrito por Erwin et al. (1961), utilizando cromatógrafo gasoso (GC2014, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) equipado com HP-INNOWax capillary column (30 m × 0,32 mm; Agilent Technologies, Colorado, USA). Foram calculadas as proporções molares dos ácidos acético, butírico, propiônico, isovalérico e valérico assim como a relação acetato:propionato e a quantidade total de AGCC (mM/100 mM).

Produção de proteína microbiana

Para a estimativa da produção de proteína microbiana, foram utilizados como indicadores os derivados de purinas (DP) na urina dos animais (Fujihara et al., 1987). Foram colhidas amostras spot de urina por micção (Chizzotti et al., 2008). Alíquotas de 10 mL de urina foram diluídas em 40 mL de H₂SO₄ à 0,036 N para análises de alantoína por método colorimétrico, segundo Fujihara et al. (1987) e descrito por Chen e Gomes (1992); creatinina (método colorimétrico-picrato alcalino) e ácido úrico (enzimático trinder) foram realizadas por meio de kits comerciais (Labtest Diagnostic S.A., Lagoa Santa, Brasil).

O volume urinário total diário foi estimado pela divisão da excreção diária de creatinina pela concentração de creatinina na urina (Costa e Silva et al., 2012), utilizando a seguinte equação: *Excreção diária de urina (g/dia)* = $0,0345 \times PC^{0,9491}$.

A estimativa da excreção diária de derivados de purina foi calculada utilizando a soma da concentração de alantoína e ácido úrico. As purinas absorvidas e o fluxo de nitrogênio microbiano para o intestino delgado (NMIC) foram calculados de acordo com Barbosa et al. (2011) usando as equações: *Purinas absorvidas* = (derivados de purina + $(0,301 \times PC^{0,75}) / 0,80$) e *N microbiano* = $(70 \times \text{purinas absorvidas}) / (0,90 \times 0,137 \times 1000)$ onde purinas absorvidas está em mmol/dia e NMIC é fluxo de N microbiano para o intestino delgado em g/dia.



Esquema 1. Linha do tempo dos dias de coleta nos animais de metabolismo.

Análise estatística – Estudo 2

Os resultados foram analisados considerando um delineamento em quadrado latino 4x4, com agrupamento de três quadrados simultâneos (cada animal dentro do piquete foi considerado como unidade experimental), em esquema fatorial 2 x 2, duas fontes de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®] com ou sem óleo essencial [Cinnagar®]). Em todas as análises estatísticas, foi utilizado o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Diferenças foram consideradas significantes quando $P < 0,05$ enquanto tendência foi considerada quando $0,05 \leq P \leq 0,10$.

3. RESULTADOS

Não houve influência dos tratamentos e suas interações sobre o GMD ($P > 0,45$) e peso corporal final ($P > 0,22$, Tabela 2), O GMD entre os tratamentos foi de 0,921 kg.

Tabela 2, Desempenho de bovinos Nelore na fase de recria no período das águas suplementados com diferentes fontes de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®] com ou sem óleo essencial [Cinnagar®].

Fonte (F)	Farelo de soja		Soypass®		EPM ¹	P valor ²		
	Sem	Com	Sem	Com		F	C	F×C
Cinnagar® (C)								
Peso corporal inicial, kg	291	286	288	289	20,4			
Peso corporal final, kg	388	383	391	400	23,7	0,23	0,59	0,60
Ganho médio diário, kg	0,919	0,893	0,930	0,942	0,05	0,36	0,82	0,29

¹Erro padrão da média. ²As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \leq 0,10$. 1- P: Períodos, as interações FxP, CxP e FxCxP foram consideradas no modelo, mas não foram significativas ($P > 0,10$).

A concentração de ureia no sangue teve influência da presença de óleo essencial ($P = 0,03$, tabela 3). Animais suplementados com Cinnagar® apresentaram concentração de ureia 22% maior em relação aos animais não suplementados.

A concentração de glicose teve alteração no horário de coleta ($P < 0,01$) e interação entre fonte de proteína verdadeira e uso de óleo essencial ($P < 0,01$, Tabela 3). As concentrações de proteína e creatinina não foram influenciadas pelos tratamentos e interações.

A maior concentração de glicose foi observada nos tratamentos com SoyPass® e presença de óleos essenciais (Cinnagar®). A maior concentração de glicose foi de 66,5 mg/dl.

Tabela 3. Parâmetros sanguíneos de bovinos Nelore na fase de recria no período das águas suplementados com diferentes fontes de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®] com ou sem óleo essencial [Cinnagar®].

Farelo (F)	Farelo de soja		Soypass®		EPM ¹	P valor ²			
Cinnagar® (C)	Sem	Com	Sem	Com		F	C	Horário coleta	F×C
N ureico, mg/dl	13,7	20,7	15,9	17,1	2,47	0,72	0,03	0,76	0,11
Proteína, g/L	61,6	59,3	60,8	61,2	48,3	0,73	0,51	0,07	0,38
Glicose, mg/dl	58,6b	52,9b	50,3b	66,5a	3,16	0,41	0,11	<0,01	<0,01
Creatinina, μ mol/L	361	350	351	351	5,75	0,37	0,33	0,83	0,36

¹Erro padrão da média. ²As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \leq 0,10$. Períodos, as interações FxHor, CxHor e FxCxHor foram consideradas no modelo, mas não foram significativas ($P > 0,24$).

A utilização de Soypass® reduziu em 10% a concentração de N-NH₃ ($P = 0,07$; tabela 4). A fonte de proteína não alterou os ácidos graxos de cadeia curta ($P > 0,25$). A utilização dos óleos essenciais alterou a concentração do isovalerato, aumentando em 7% a concentração deste ácido ($P = 0,02$, Tabela 4). O Cinnagar® elevou a concentração de N-NH₃ ($P = 0,05$).

Tabela 4. Efeito dos paramentos ruminais ácidos orgânicos e N-NH₃ de bovinos Nelore na fase de recria no período das águas suplementados com diferentes fontes de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®] com ou sem óleo essencial [Cinnagar®].

Fonte(F) Cinnagar® (C)	Farelo de soja		Soypass®		EPM ²	P valor ³						
	Sem	Com	Sem	Com		F	C	Hor	F×C	F×Hor	C×Hor	F×C×Hor
pH	6,53	6,57	6,58	6,58	0,07	0,22	0,40	< 0,01	0,37	0,53	0,32	0,42
A:P ¹	4,71	4,69	4,61	4,78	4,70	0,98	0,39	< 0,01	0,25	0,20	0,52	0,32
Total, mM	139	138	137	136	138	0,25	0,52	< 0,01	0,98	0,21	0,36	0,24
Acetato, mol/100 mol	65,6	65,5	65,0	65,8	65,0	0,66	0,44	< 0,01	0,30	0,15	0,79	0,76
Propionato, mol/100 mol	14,0	14,0	14,9	13,9	14,0	0,38	0,28	< 0,01	0,26	0,41	0,38	0,25
Butirato, mol/100 mol	8,38	8,32	8,25	8,11	8,30	0,21	0,46	< 0,01	0,74	0,50	0,97	0,99
Isovalerato, mol/100 mol	1,99	2,07	1,89	2,09	1,98	0,53	0,02	< 0,01	0,32	0,18	0,05	0,08
Valerato, mol/100 mol	1,84	1,87	1,88	1,85	1,85	0,91	0,98	< 0,01	0,71	0,03	0,75	0,55
NH ₃ , mg/dL	7,12	7,93	6,49	7,16	7,25	0,07	0,05	< 0,01	0,85	0,10	0,61	0,39

¹Relação acetato:propionato. ²Erro padrão da média. Hor=Horário de coleta ³As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \geq 0,10$.

Na interação de efeito das fontes de proteína verdadeira vs horário de coleta a concentração de Valerato teve diferença significativa ($P = 0,04$, figura 2), no horário antes da suplementação. Animais suplementados com Soypass apresentaram um aumento na concentração de valerato em relação aos animais não suplementados.

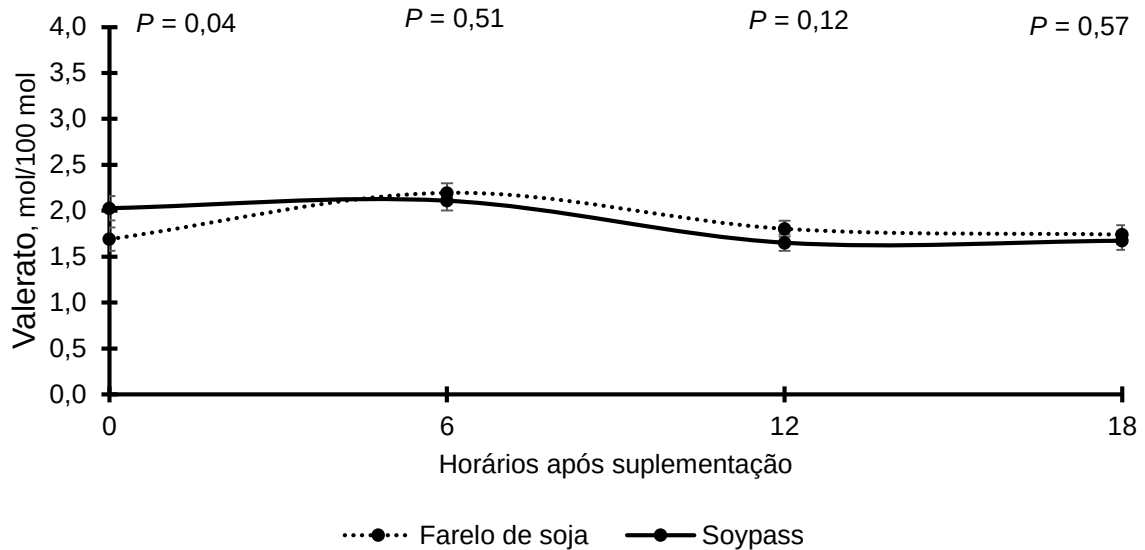


Figura 02. Interação entre horário após suplementação e fontes de proteína verdadeira (farelo de soja e farelo de soja tratado [Soypass BR®]) na concentração ruminal de valerato (mol/100 mol de AGCC) em bovinos Nelore na fase de recria no período das águas.

Na interação de adição de óleo essencial vs horário de coleta a concentração de isovalerato teve tendência significativa ($P = 0,05$, Figura 3), nos horários 12 e 18 horas após suplementação observamos diferenças ($P = 0,01$). Animais suplementados com óleo essencial apresentaram um aumento de 14% na concentração de isovalerato em relação aos animais não suplementados.

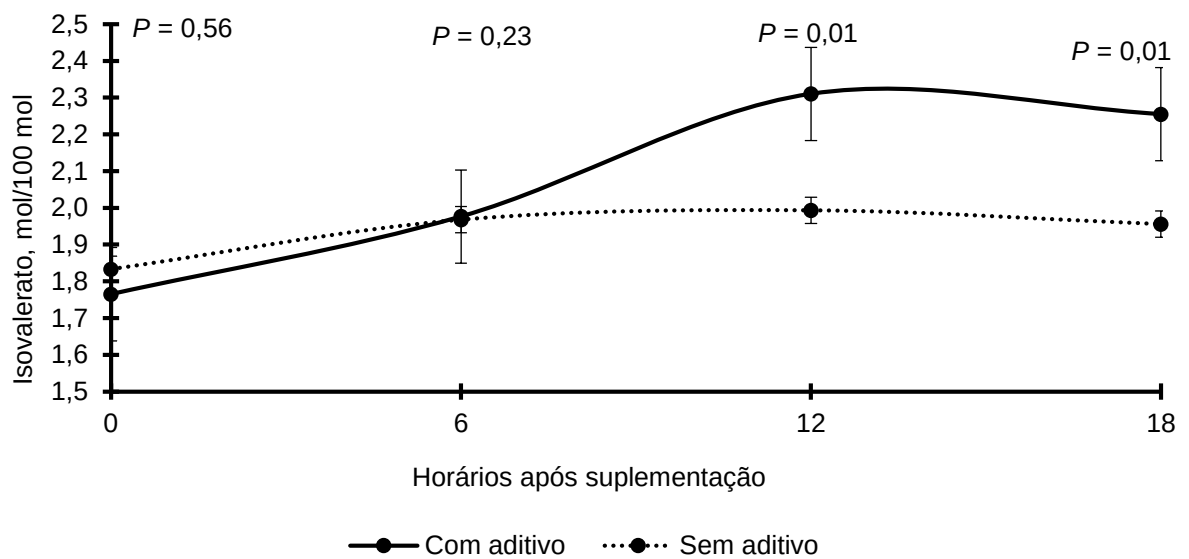


Figura 3. Interação entre horário após suplementação e adição de óleo essencial Cinnagar® na concentração ruminal de isovalerato (mol/100 mol de AGCC) em bovinos Nelore na fase de recria no período das águas.

Não foi observado efeito das fontes de proteína verdadeira e dos óleos essenciais sobre nenhum dos parâmetros urinários e síntese de nitrogênio microbiano ($P > 0,28$). A produção média de síntese de nitrogênio microbiano foi de 291g por dia.

Tabela 5: síntese de nitrogênio microbiano em tourinhos Nelore durante a recria em pasto de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu

Farelo (F)	Farelo de soja		Soypass®		EPM ¹	P valor ²		
	Sem	Com	Sem	Com		F	C	F×C
Cinnagar® (C)								
Peso Corporal, kg	590	589	592	594	41,0	0,12	0,57	0,38
Alantoína, mmol/dia	396	433	491	410	69,0	0,35	0,55	0,13
Ácido úrico, mmol/dia	293	320	325	298	30,1	0,83	0,99	0,29
DP, mmol/dia	425	464	524	440	70,4	0,35	0,57	0,13
PA, mmol/dia	487	536	610	505	87,0	0,35	0,57	0,12
Nmic, g/dia	245	271	309	255	44,9	0,35	0,57	0,12

DP=Derivados de purinas, PA=Purinas absorvidas, Nmic= Nitrogênio de origem microbiana. ¹Erro padrão da média ²As médias foram comparadas pelo teste-t e as diferenças consideradas a partir do $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $0,05 \geq P \geq 0,10$

4. DISCUSSÃO

O fornecimento de fontes de proteína não degradadas no rúmen aumenta diretamente o suprimento de proteína metabolizável, possibilitando melhorias no desempenho por propiciar glicose e aminoácidos prontamente disponíveis no intestino delgado (Poppi e McLennan, 1995). Nesse experimento houve um aumento do aporte de glicose quando os animais foram suplementados com proteína bypass ruminal (Soypass®) que contem 70% de PNDR e com a adição de óleo essencial Cinnagar®. Porém não foi observado uma resposta no aumento do ganho de peso. O ganho dos animais foi de 0,921 kg de peso corporal de média nos períodos experimentais.

Em estudos de Detmann et al. (2014), realizados em condições brasileiras, indicaram que quando há aumento no suprimento de compostos nitrogenados via suplementação observa-se aumento no anabolismo muscular e redução do catabolismo de proteínas miofibrilares, sem necessariamente estar associado a alterações na produção microbiana. É provável que a resposta nesse experimento fosse comprovada com a avaliação do peso em carcaça.

O uso de suplementos com proteína bypass ruminal (Soypass®) no

experimento diminuiu a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen. Já o uso de óleo essencial aumentou o nitrogênio amoniacal e ureia plasmática. O que se esperava desses dois produtos pela ação de diminuir a degradação de proteína no rúmen, era diminuir as concentrações desses metabólicos. Porém na literatura não há um valor estabelecido de nitrogênio amoniacal no rúmen que limite a utilização e aproveitamento deste no metabolismo de proteína microbiana. São encontrados valores de 5,0 até 20 mg/dL N- NH_3 ; valores fora desse limite poderiam restringir a produção de proteína microbiana, degradação microbiana da fibra oriunda da forragem e consumo voluntário (Satter e Slyter, 1974; Schaefer et al., 1980; Leng, 1990; Valadares Filho e Pina 2011). Porém, de acordo com Valadares Filho e Pina (2011), as concentrações não devem ser definidas por um número fixo, pois a capacidade das bactérias sintetizarem proteína e a utilização de N- NH_3 dependem da taxa de fermentação de carboidratos. De acordo com Mezzomo et al. (2016), mesmo diminuindo a quantidade de proteína degradada no rúmen da dieta, não há diminuição da quantidade de proteína microbiana produzida no rúmen.

A maior concentração de ureia no sangue é positivamente relacionada à ingestão de nitrogênio. De acordo com observado o nível médio de nitrogênio ureico no plasma foi de 16,9 mg/dL. Esses valores encontrados do nitrogênio ficaram dentro do considerado normal para bovinos, que variam de 10 a 30 mg/dL (Swenson e Reece 1996).

5. CONCLUSÃO

A suplementação com fontes de proteína verdadeira e óleo essencial altera a concentração de glicose, porém não afeta o desempenho e síntese de nitrogênio microbiano de bovinos Nelore em pastagens no período de águas.

6. REFERÊNCIAS

Atkinson RL, Toone CD, Ludden PA (2007) Effects of supplemental ruminally degradable protein versus increasing amounts of supplemental ruminally undegradable protein on site and extent of digestion and ruminal characteristics in lambs fed low-quality forage. **Journal of Animal Science** 85:3322–3330.

Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C (2005) Screening for effects of plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation. **Animal Feed Science and Technology** 123(3-4):597-613.

Cobellis C, Marinucci MT, Marcotullio MC, Yu Z (2016) Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria in vitro. **Animal Feed Science and Technology** 215:25-36.

Costa e Silva LF, Valadares Filho SC, Chizzotti ML; Rotta PP, Prados LF, Valadares RFD, Zanetti D, Silva Bragal JM (2012) Creatinine excretion and relationship with body weight of Nelore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia** vol.41 no.3.

Chizzotti ML, Valadares Filho SC, Valadares, RFD, Chizzotti FHM, Tedeschi LO (2008) Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, 113, 218-225.

Chen XB, Gomes MJ (1992) Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. Aberdeen, UK: International Feed Resources Unit, Rowett Research Institute.

De Paula NF, Zervoudakis JT, Cabral LS, Carvalho DMG, Hatamoto-Zervoudakis LK, Moraes EHBK, Oliveira AA (2010) Frequência de suplementação e fontes de proteína para recria de bovinos em pastejo no período seco: desempenho produtivo e econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia** 39:873-882.

Detmann E, Van Soest EEL, Batista ED, Huhtanen P (2014) An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science** 162:141-153

De Vries MFW (1995) Estimating forage intake and quality in grazing cattle: A reconsideration of the hand-plucking method. **Journal of Range Management** 48:370–375. <https://doi.org/10.2307/4002491>.

Erwin ES, Marco GJ, Emery EM (1961) Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science** 44:1768-1771.

Euclides VPB, Euclides Filho K, Costa FP, Figueiredo GR (2001) Desempenho de novilhos F1s angus-nelore em pastagens de *Brachiaria decumbens* submetidos a diferentes regimes alimentares. **Revista Brasileira de Zootecnia** 30:470-481.

Fujihara T, Ørskov ER, Reeds PJ, Kyle DJ (1987) The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *The Journal of Agricultural Science*, 109, 7–12

Galloway JN, Cowling EB, Seitzinger SP, Socolow RH (2002) Reactive nitrogen: too much of a good thing? **AMBIO: A Journal of the Human Environment** 31:60-63.

Goering HK, Van Soest PJ (1970) Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA, 1970.

Kerr MG (2003) Exames laboratoriais em medicina veterinária: Bioquímica clínica e hematologia, (In Portuguese,) 2nd ed, Roca, São Paulo, Brazil.

Kertz AF (2010) Urea Feeding to Dairy Cattle: A Historical Perspective and Review. **The Professional Animal Scientist** 26:257–272.

Leng RA (1990) Factors Affecting the Utilization of 'Poor-Quality' Forages by Ruminants Particularly Under Tropical Conditions. **Nutrition Research Reviews** 3:277-303.

Machado MG, Detmann E, Mantovani HC, Valadares Filho SC, Bento CBP, Marcondes MI, Assunção AS (2016) Evaluation of the length of adaptation period for changeover and crossover nutritional experiments with cattle fed tropical forage-based diets. **Animal Feed Science and Technology** 222-132–148.

Mezzomo R, Paulino PVP, Barbosa MM, Martins TS, Paulino MF, Alves KS, Gomes DI, Monnera JIS (2016) Performance and carcass characteristics of young cattle fed with soybean meal treated with tannins. **Animal Science Journal** 87:743-854.

Moretti MH, Resende FD, Siqueira GR, Roth APTP, Custodio L, Roth MTP, Campos WC, Ferreira LH (2013) Performance of Nelore young bulls on Marandu grass pasture with protein supplementation. **Revista Brasileira de Zootecnia** 42:438-446.

Mott GO, Lucas HL (1952) The designs conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, Pennsylvania. Proceedings... Pennsylvania: State College Press, p.1380-1385.

Nocek JE, Russell JB (1998) Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science** 71:2070-2107.

Noel RJ, Hambleton LG (1976) Collaborative study of a semiautomated method for determination of crude protein in animal feeds. **Journal Assoc. Off. Anal. Chem.** 59:134–140.

Poppi DP, Mclennan SR (1995) Protein and energy utilization by ruminants t pasture. **Journal of Animal Science** 73:278-290.

Robertson JB, Van Soest PJ (1981) The detergent system of analysis and its application to human foods. In: JAMES, W.P. T.; THEANDER, O. (Eds.) The analysis of dietary fiber in food. New York: Marcel Dekker, p.123-158.

Satter L, Slyter L (1974) Effect of ammonia concentration on rúmen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition** 32:199-206.

Swenson MJ, Reece WO (1996) Fisiologia dos animais domésticos. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856p

Schaefer DM, Davis CL, Bryant MP (1980) Ammonia saturation constants for predominant species of rúmen bacteria. **Journal of Dairy Science** 63:1248- 1263.

Sollenberger LE, Cherney DJR (1995) Evaluating forage production and quality. In: Barnes, R.F.; Miller, D.A.; Nelson, C.J. **Forages: the science of grassland agriculture** 2:97-110.

Tamminga S (1992) Nutrition Management of Dairy Cows as a Contribution to Pollution Control. **Journal of Dairy Science** 75:345-357.

Valadares Filho SC, Pina DS (2011) Fermentação Ruminal. In: Berchielli TT, Pires AV, Oliveira SG. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, ed 2, p.161- 189.

Yang WZ, Ametaj BN, Benchaar C, Beauchemin KA (2010) Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: ruminal and intestinal digestion. **Journal Animal Science** 88:680–688.