

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO DE DIFERENTES FONTES DE CARBOIDRATOS ASSOCIADAS À  
UREIA EM DIETAS PARA RUMINANTES**

**KELLY CRISTINA DOS SANTOS**

**RECIFE - PE  
JULHO - 2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO DE DIFERENTES FONTES DE CARBOIDRATOS ASSOCIADAS À  
UREIA EM DIETAS PARA RUMINANTES**

**KELLY CRISTINA DOS SANTOS**  
Zootecnista

**RECIFE - PE  
JULHO - 2017**

**KELLY CRISTINA DOS SANTOS**

**EFEITO DE DIFERENTES FONTES DE CARBOIDRATOS  
ASSOCIADAS À UREIA EM DIETAS PARA RUMINANTES**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Francisco Fernando Ramos de Carvalho - Orientador

Prof. Dr. André Luiz Rodrigues Magalhães - Coorientador

Prof<sup>ª</sup> Dra. Ângela Maria Vieira Batista - Coorientadora

**RECIFE - PE  
JULHO - 2017**

Ficha Catalográfica  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S237e Santos, Kelly Cristina dos.  
Efeito de diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia  
em dietas para ruminantes / Kelly Cristina dos Santos . – 2017.  
68 f. : il.

Orientador: Francisco Fernando Ramos de Carvalho.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife, BR  
-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Ácidos graxos de cadeia curta 2. Desempenho 3. Metano  
4. Palma forrageira 5. Perfil metabólico 6. qPCR I. Carvalho,  
Francisco Fernando Ramos de, orient. II. Título

CDD 636

**KELLY CRISTINA DOS SANTOS**

**EFEITO DE DIFERENTES FONTES DE CARBOIDRATOS ASSOCIADAS À  
UREIA EM DIETAS PARA RUMINANTES**

Tese defendida e aprovada em 21/07/2017, pela Comissão Examinadora.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Guim  
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE  
Departamento de Zootecnia

---

Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Teodoro  
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE  
Unidade Acadêmica de Garanhuns

---

Prof. Dr. João Paulo Ismério dos Santos Monnerat  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE  
Departamento de Zootecnia

---

Prof. Dr. Kedes Paulo Pereira  
Universidade Federal de Alagoas - UFAL  
Centro de Ciências Agrárias

---

Prof. Dr. Francisco Fernando Ramos de Carvalho  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE  
Departamento de Zootecnia  
(Orientador)

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

KELLY CRISTINA DOS SANTOS - Filha de Maria Gercina dos Santos e Adelmo Marques Cavalcanti nasceu na cidade de São Paulo, São Paulo-SP, em 10 de fevereiro de 1987. Em agosto de 2006 ingressou no curso de Zootecnia da Unidade Acadêmica de Garanhuns / Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAG/UFRPE), onde desenvolveu atividades de monitoria, extensão e iniciação científica, sendo bolsista PIBIC de julho de 2009 a agosto de 2011, momento em que recebeu o título de Bacharel em Zootecnia. Em agosto de 2011, ingressou no curso de pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens da UAG/UFRPE, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, tendo concluído em julho de 2013. Em agosto 2013 ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da UFRPE, em Recife, desenvolvendo sua pesquisa na área de Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de tese para obtenção do título de Doutora em Zootecnia no dia 21 de julho de 2017.

*“Um carro em alta velocidade chega cedo ao seu destino. O camponês sobre a carroça demorará muito mais tempo. Mas quem saboreou o caminho? Quem se recorda dos inúmeros detalhes que o caminhar ofereceu? Quem teve mais chance de aprender com a ida?”*

*Gilson Volpato*

A minha mãe, Maria Gercina dos Santos, pelo seu amor e apoio incondicional,  
pelos seus esforços por mim, por compreender minhas ausências...

Ao meu avô, José Bezerra dos Santos Irmão, pelo exemplo de caráter e dignidade  
que sempre foi e a minha avó, Gercina Maria da Conceição Santos (*in memoriam*), por  
todos os ensinamentos e pelas lembranças felizes...

Aos meus irmãos, Roberto, Rivaldo e Rosineide, pelo carinho e admiração sempre  
demostrados.

Ao meu amigo e namorado, Lenivaldo, por todo apoio, compreensão e carinho  
dedicados a mim.

***DEDICO***



## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por me levar muito além do que imaginei, por me amar tanto e cuidar de mim em todos os momentos desta jornada.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, minha segunda casa, pela oportunidade acadêmica oferecida e por na figura dos seus servidores ser veículo para o desenvolvimento da região.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Pernambuco (FACEPE), pelo financiamento desta pesquisa.

Ao meu orientador, professor Francisco Fernando R. de Carvalho, por ter me aceitado como orientanda, pela confiança depositada, pelas oportunidades oferecidas, pela paciência, pelos grandes aprendizados e amadurecimento profissional e pessoal proporcionados.

Ao professor André Luiz R. Magalhães, por ter aceitado fazer parte do comitê de orientação, por sempre acreditar em mim, pelas oportunidades oferecidas, por ser também um amigo e porque não dizer, algumas vezes um pai. Através do senhor pude sentir muitas vezes o cuidado de Deus para comigo. Muito obrigada por tudo, professor!

A professora Ângela Maria V. Batista, por aceitar fazer parte do comitê de orientação, pelos ensinamentos, pela solicitude, pelas colaborações na elaboração deste trabalho.

Ao professor Ives Bueno, pela oportunidade de realização de parte deste trabalho no Laboratório de Fermentabilidade Ruminal da FZEA/USP e pelas colaborações na análise dos dados. A todos os funcionários e estagiários deste laboratório, pela cooperação durante os ensaios *in vitro*.

Ao professor Ricardo e ao Dr. Mateus do laboratório de Biologia molecular da FZEA/USP, pelo aprendizado e pela colaboração na realização das análises de qPCR.

A querida amiga Gisele, pela hospitalidade e confiança durante a realização dos trabalhos na FZEA/USP, pela sua grande ajuda na condução dos trabalhos, sobretudo pela amizade construída.

Aos amigos que a pós-graduação me deu: Daurivane (Peq), Jucelane (Fofinha), Daniel, Randerson, Gleidiana Amélia (Amelinha), Janiele e Marina, pelo suporte que me deram em momentos que muito precisei, pelas risadas e por todos os momentos compartilhados.

A Felipe José, pelo compartilhamento das tarefas no experimento com os ovinos e aos demais colegas de pós-graduação: Ximena, Rayane, Talita Almeida, Julyana Sena, Lucíola, Karen, Caio, Michelle e Wandemberg, pela ajuda nas coletas e pelos momentos compartilhados.

Aos amigos Liberato, Nathallia e Helton, pelo apoio e acolhimento na casa e na família de vocês e por fazerem parte deste caminho.

Aos amigos e companheiros de república João Tiago, Carol, Juliane e Sandra, pela convivência agradável e por todos os momentos compartilhados.

A todos os professores do Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da UFRPE, por contribuírem para a minha formação profissional e em especial a professora Adriana Guim, sempre tão solícita para comigo.

Aos estagiários Andreza, Margaux, Bruno e em especial a Letycia, por toda contribuição na condução dos trabalhos.

Ao Dr. Cleyton Charles Dantas Carvalho, do Laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, pelo auxílio nas análises de sangue e urina.

A doutora Ana Lúcia Teodoro, pela sua pronta disposição e por todo auxílio na elaboração deste trabalho e ao prof. Kedes Pereira, pelo auxílio prestado.

Ao senhor Pedro, pela colaboração nos trabalhos de campo e a todos os funcionários terceirizados do Departamento de Zootecnia, por contribuir para a continuidade dos nossos trabalhos.

A todos os amigos, que mesmo distantes, de alguma forma se fizeram presentes nesta caminhada e a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui.

**A TODOS VOCÊS, MINHA GRATIDÃO!**

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE TABELAS -----	xi
LISTA DE FIGURAS -----	xii
RESUMO GERAL -----	xiii
ABSTRACT -----	xv
CONSIDERAÇÕES INICIAIS -----	1
Capítulo 1 - Impacto de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia na fermentação <i>in vitro</i> e na população de microrganismos ruminais -----	3
Resumo -----	4
Abstract -----	5
Introdução -----	6
Material e métodos -----	7
Resultados -----	14
Discussão -----	20
Conclusões -----	23
Referências bibliográficas -----	23
Capítulo 2 – Efeito de diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia sobre o desempenho produtivo e o perfil metabólico de ovinos Santa Inês em terminação -----	28
Resumo -----	29
Abstract -----	30
Introdução -----	31

Material e Métodos-----	32
Resultados-----	37
Discussão-----	42
Conclusões-----	46
Referências bibliográficas-----	47
CONSIDERAÇÕES FINAIS-----	50

## LISTA DE TABELAS

### **Capítulo 1 - Impacto de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia na fermentação *in vitro* e na população de microrganismos ruminais**

	<b>Página</b>
Tabela 1. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base da matéria seca (g/kg MS) -----	7
Tabela 2. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas -----	8
Tabela 3. Primers utilizados para quantificação das bactérias ruminais, por meio do ensaio de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real -----	12
Tabela 4. Degradação da matéria orgânica (DMO), fator de partição e produtos da fermentação de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, após 24 h de incubação-----	15
Tabela 5. Parâmetros do modelo de France et al. (1993), degradação da matéria orgânica (DMO), fator de partição e produtos da fermentação de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, após 96 h de incubação-----	16

### **Capítulo 2 - Efeito de diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia sobre o desempenho produtivo e o perfil metabólico de ovinos Santa Inês em terminação**

	<b>Página</b>
Tabela 1. Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base da matéria seca (g/kg MS) -----	33
Tabela 2. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas -----	34
Tabela 3. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes em cordeiros alimentados com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia -----	38
Tabela 4. Desempenho e balanço de nitrogênio (N) de cordeiros alimentados com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia -----	40
Tabela 5. Excreção de metabólitos urinários e produção de proteína microbiana em cordeiros alimentados com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia -----	41

Tabela 6. Perfil metabólico sanguíneo de cordeiros alimentados com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia -----	42
---	----

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1 - Impacto de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia na fermentação *in vitro* e na população de microrganismos ruminais

	Página
Figura 1. Cinética de produção cumulativa de gases de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, após 96 h de incubação -----	17
Figura 2. Taxa fracional de fermentação de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, após 96 h de incubação -----	18
Figura 3. Abundância da população de <i>F. succinogenes</i> , protozoários e bactérias totais, após 24 h de incubação <i>in vitro</i> com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia -----	18
Figura 4. Abundância da população de <i>Streptococcus bovis</i> , <i>R. flavefaciens</i> e <i>Archaea</i> , após 24 h de incubação <i>in vitro</i> com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia -----	19
Figura 5. Abundância da população de <i>Streptococcus bovis</i> , bactérias totais e <i>Archaea</i> , após 96 h de incubação <i>in vitro</i> com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia -----	19
Figura 6. Abundância da população de <i>F. succinogenes</i> , <i>R. flavefaciens</i> e Protozoários, após 96 h de incubação <i>in vitro</i> com diferentes fontes de carboidratos associados à ureia -----	20

## **EFEITO DE DIFERENTES FONTES DE CARBOIDRATOS ASSOCIADAS À UREIA EM DIETAS PARA RUMINANTES**

**RESUMO GERAL** - Objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar o impacto de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, sobre a fermentação ruminal *in vitro* e o perfil da população de microrganismos ruminais (experimento 1) e o efeito destas dietas sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, desempenho, utilização do nitrogênio e perfil metabólico sanguíneo de cordeiros em terminação (experimento 2). Nos dois experimentos foram testadas quatro dietas, tendo como volumoso o feno de Tifton-85 (580 g/kg de matéria seca) e as associações: milho + farelo de soja; milho + ureia; raspa de mandioca + ureia; palma forrageira + ureia. No experimento 1 foram realizados dois ensaios, utilizando a técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases. No primeiro ensaio o tempo final de incubação foi de 24 h e no segundo ensaio o tempo final de incubação foi de 96 h. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos (dietas) e cinco blocos (inóculos). A dieta contendo raspa + ureia resultou em maior ( $P < 0,05$ ) produção total de gases, maior produção de metano ( $\text{CH}_4$ ) e menor fator de partição. As dietas contendo ureia afetaram ( $P < 0,05$ ) as concentrações de isobutirato, isovalerato e valerato nos dois ensaios. Após 96 h de incubação, as dietas raspa + ureia e palma + ureia reduziram ( $P < 0,05$ ) a população de *Ruminococcus flavefaciens*, comparada a dieta milho + ureia. Houve também redução da população de *Streptococcus bovis*, comparada à dieta milho + farelo de soja. No experimento 2 foram utilizados 40 cordeiros, Santa Inês, machos não castrados, com peso corporal inicial médio de  $22,8 \pm 2,1$  kg, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. Os cordeiros alimentados com palma + ureia tiveram menor consumo ( $P < 0,05$ ) de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), lignina, carboidratos totais (CHT), carboidratos não fibrosos e energia; menor digestibilidade aparente ( $P < 0,05$ ) da MS, MO e CHT, bem como menor peso corporal final e ganho médio diário (g/dia). Os cordeiros alimentados com palma + ureia apresentaram também maior ( $P < 0,05$ ) concentração sérica de magnésio, maior ( $P < 0,05$ ) volume urinário e maior eficiência microbiana (relação entre o fluxo de N microbiano e a matéria orgânica digestível fermentada no rúmen). As dietas contendo milho resultaram em maior retenção ( $P < 0,05$ ) de nitrogênio e maior concentração sérica de

colesterol, triglicerídeos e fósforo. A dieta contendo raspa leva a maior produção de CH<sub>4</sub>, reduzindo a eficiência de fermentação. As dietas contendo ureia em substituição total ao farelo de soja alteram a produção de ácidos graxos de cadeia curta e as populações de *S. bovis* e *R. flavefaciens*. As fontes de carboidratos milho, raspa de mandioca ou palma, em associação com a ureia, em dietas para cordeiros em terminação, não permite o mesmo desempenho de animais consumindo milho + farelo de soja. Dietas contendo milho + ureia propiciam taxa de ganho em peso corporal de 200 g/dia.

**Palavras-chave:** Ácidos graxos de cadeia curta, Desempenho, Metano, Palma forrageira, Perfil metabólico, qPCR



## EFFECT OF DIFFERENT CARBOHYDRATES SOURCES ASSOCIATED WITH UREA IN DIETS FOR RUMINANTS

**ABSTRACT** - The objective was to evaluate the impact of diets containing different carbohydrates sources associated with urea on ruminal fermentation *in vitro* and the ruminal microorganism population profile (experiment 1); and the effect of these diets on intake and digestibility of nutrients, performance, nitrogen utilization and blood metabolic profile of finishing lambs (experiment 2). In the two experiments, four diets were tested: having Tifton-85 hay (580 g/kg dry matter) as forage and corn + soybean meal; corn + urea; cassava scraping + urea; cactus pear + urea. In the experiment 1 two tests were carried out, using the semi-automatic *in vitro* gas production technique. In the first assay the final incubation time was 24 h and in the second assay the final incubation time was 96 h. The experimental design was in randomized blocks, with four treatments (diets) and five blocks (inoculum). The diet containing cassava + urea resulted in greater ( $P<0.05$ ) total gas production, higher methane ( $\text{CH}_4$ ) production and lower partitioning factor. The diets containing urea affected ( $P<0.05$ ) the concentrations of isobutyrate, isovalerate and valerate in the two trials. After 96 h of incubation, the diets cassava + urea and cactus + urea reduced ( $P<0.05$ ) the *Ruminococcus flavefaciens* population, compared to the corn + urea diet. There was also a reduction in the *Streptococcus bovis* population compared to the corn + soybean meal diet. In the experiment 2, 40 lambs, Santa Inês, uncastrated males, with average initial body weight of  $22.8 \pm 2.1$  kg were used, distributed in a completely randomized design. The lambs fed with cactus + urea had lower intake ( $P<0.05$ ) of dry matter (DM), organic matter (OM), lignin, total carbohydrates (TCH), non-fibrous carbohydrates and energy; lower ( $P<0.05$ ) apparent digestibility of DM, OM and TCH, as well as lower final body weight and average daily gain (g/day). The lambs fed with cactus + urea also had higher ( $P<0.05$ ) serum magnesium concentration, higher ( $P<0.05$ ) urinary volume and higher microbial efficiency (relation between microbial N flow and the digestible organic matter fermented in the rumen). Diets containing corn resulted in higher ( $P<0.05$ ) nitrogen retention and higher serum cholesterol, triglycerides and phosphorus concentration. The cassava containing diet leads to higher  $\text{CH}_4$  production, reducing fermentation efficiency. Diets containing urea in total substitution to soybean meal alter

the production of short chain fatty acids and the populations of *S. bovis* and *R. flavefaciens*. The carbohydrates sources corn, cassava scraping or cactus pear, in association with urea, in finishing lambs diets, do not allow the same performance of animals intake corn + soybean meal. Diets containing corn + urea provide a gain rate in body weight of 200 g/day.

**Keywords:** Cactus pear, Methane, Metabolic profile, Performance, qPCR, Short-chain fatty acids

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

As investigações em busca de sistemas de alimentação que otimizem o desempenho animal em curto prazo e reduzam o custo total de produção é objetivo de muitas pesquisas na produção de ruminantes. No Brasil, as alternativas alimentares pesquisadas visam à substituição dos grãos de cereais tradicionalmente utilizados, tais como o milho (*Zea mays*) e a soja (*Glycine max*), em virtude das consideráveis variações de preço causadas pelas exportações, por se tratar de *commodities* agrícolas, bem como pela concorrência da utilização destes grãos na dieta de humanos, aves e suínos. Além da distância dos centros produtores, que também eleva o custo de produção.

Diante deste cenário, no Semiárido brasileiro as pesquisas têm sido direcionadas para utilização de recursos alimentares não convencionais, disponíveis e adaptados à região. Dentre as fontes energéticas alternativas, destaca-se a raspa de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* ou *Nopalea cochenillifera*). No tocante a substituição do farelo de soja, a utilização da ureia pode ser uma alternativa potencial para redução dos custos das dietas utilizadas na alimentação de ruminantes, devido ao seu menor custo por unidade de nitrogênio. No entanto, a quantidade de nitrogênio incorporado no rúmen depende da concentração de energia fermentável da dieta. Por isso é importante a sincronização na disponibilização da fonte de nitrogênio associada à fonte energética.

O aporte energético adequado pode resultar em maior eficiência dos sistemas de produção animal. Contudo, diferentes fontes de carboidratos, bem como suas taxas de degradação, afetam diretamente o uso da energia e do nitrogênio no rúmen, resultando em modificações no metabolismo ruminal, no fluxo de nutrientes para os intestinos e conseqüentemente sobre o desempenho animal. Além disso, as características de fermentação ruminal, como a produção de ácidos graxos de cadeia curta, também podem ser afetadas, e essas mudanças podem impactar sobre as populações de microrganismos ruminais, o que, por sua vez, afeta a eficiência da fermentação ruminal.

Embora conhecidos muitos dos efeitos da substituição do farelo de soja pela ureia e a associação da ureia com alimentos ricos em carboidratos não fibrosos, na alimentação de ruminantes, existem ainda lacunas no que tange a caracterização desses

efeitos sobre os microrganismos ruminais, relacionando-os com o aproveitamento dos nutrientes, tendo em vista a maximização da eficiência de utilização da dieta, associada à possibilidade de redução dos impactos ambientais causados pela produção animal, como por exemplo, a mitigação das emissões do metano entérico.

Isto posto, no primeiro capítulo deste trabalho, objetivou-se avaliar o efeito de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, sobre a fermentação ruminal *in vitro* e o perfil da população de microrganismos ruminais. No segundo capítulo, objetivou-se avaliar o efeito destas dietas, sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes, desempenho, utilização do nitrogênio e perfil metabólico sanguíneo de cordeiros Santa Inês em terminação.

## **CAPÍTULO 1**

---

Impacto de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia na fermentação *in vitro* e na população de microrganismos ruminais

Impacto de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia na fermentação *in vitro* e na população de microrganismos ruminais

### RESUMO

A inclusão de diferentes fontes energéticas e proteicas nas dietas de ruminantes influencia a fermentação ruminal e, portanto, leva a modificações nas populações microbianas e nos produtos da fermentação. Assim, objetivou-se avaliar o efeito de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia sobre a fermentação ruminal *in vitro* e o perfil da população de microrganismos ruminais. Foram avaliadas quatro dietas, tendo como volumoso o feno de Tifton-85 (580 g/kg de matéria seca) e as associações: milho + farelo de soja; milho + ureia; raspa de mandioca + ureia e palma forrageira + ureia. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos (dietas) e cinco blocos (inóculos). Para obtenção dos inóculos foram utilizados cinco bovinos Nelore, adultos, dotados de fistula permanente no rúmen. Foram realizados dois ensaios, utilizando a técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases. No primeiro ensaio o tempo final de incubação foi de 24 h e no segundo ensaio, o tempo final de incubação foi de 96 h. A dieta contendo raspa + ureia apresentou maior ( $P<0,05$ ) produção total de gases, maior percentual de metano ( $\text{CH}_4$ ) e menor ( $P<0,05$ ) fator de partição (relação entre a matéria orgânica degradada e a produção de gases). As dietas contendo milho + ureia e raspa + ureia reduziram ( $P<0,05$ ) as concentrações de isobutirato, isovalerato e valerato após 24 h de incubação; enquanto todas as dietas contendo ureia reduziram as concentrações de isobutirato, isovalerato e valerato após 96 h e aumentaram ( $P<0,05$ ) a relação acetato/propionato. Após 96 h de incubação, as dietas raspa + ureia e palma + ureia reduziram ( $P<0,05$ ) a população de *Ruminococcus flavefaciens*, comparada a dieta milho + ureia. Houve também redução da população de *Streptococcus bovis*, comparada a dieta milho + farelo de soja. A dieta contendo raspa de mandioca tem maior potencial de degradação, entretanto, produz mais  $\text{CH}_4$ , reduzindo a eficiência de fermentação. Dietas contendo ureia em substituição total ao farelo de soja alteram a produção de ácidos graxos de cadeia curta e as populações de *S. bovis* e *R. flavefaciens*.

**Palavras-chave:** Ácidos graxos de cadeia curta, Cinética de fermentação, Metano, Palma forrageira, qPCR, Raspa de mandioca

Impact of diets containing different carbohydrate sources associated with urea on *in vitro* fermentation and in the ruminal microorganisms population

### ABSTRACT

The inclusion of different energetic and protein sources in ruminant diets influences rumen fermentation and therefore leads to modifications in microbial populations and fermentation products. Thus, the objective was to evaluate the effect of diets containing different carbohydrate sources associated with urea on ruminal fermentation *in vitro* and the ruminal microorganism population profile. Four diets were evaluated: Tifton-85 hay (580 g/kg dry matter) and the associations: corn + soybean meal; corn + urea; cassava scraping + urea and cactus pear + urea. The experimental design was in randomized blocks, with four treatments (diets) and five blocks (inoculum). To obtain the inoculum, five adult Nellore cattle with permanent fistula in the rumen were used. Two experiments were carried out using the semi-automatic *in vitro* gas production technique. In the first assay the final incubation time was 24 h and in the second assay, the final incubation time was 96 h. The diet containing cassava + urea presented higher ( $P < 0.05$ ) total gas production, higher percentage of methane ( $\text{CH}_4$ ) and lower ( $P < 0.05$ ) partitioning factor (relation between degraded organic matter and gas production). Diets containing corn + urea and cassava + urea reduced ( $P < 0.05$ ) the isobutyrate, isovalerate and valerate concentrations after 24 h of incubation; while all diets containing urea reduced ( $P < 0.05$ ) the isobutyrate, isovalerate and valerate concentrations after 96 h and increased the acetate/propionate ratio. After 96 h of incubation, the diets cassava + urea and cactus + urea reduced ( $P < 0.05$ ) the *Ruminococcus flavefaciens* population, compared to the corn + urea diet. There was also reduction of the *Streptococcus bovis* population, compared to the corn + soybean meal diet. The diet containing cassava scraping has higher degradation potential, however, it produces more  $\text{CH}_4$ , reducing fermentation efficiency. Diets containing urea in total

substitution to soybean meal alter the short chain fatty acids production and the populations of *S. bovis* and *R. flavefaciens*.

**Keywords:** Cactus pear, Cassava scrapings, Fermentation kinetics, Methane, qPCR, Short chain fatty acids

## INTRODUÇÃO

As fontes de carboidratos e compostos nitrogenados utilizados nas dietas de ruminantes e suas taxas de degradação influenciam diretamente o uso da energia e do nitrogênio no rúmen, resultando em modificações no metabolismo ruminal e no fluxo de nutrientes para os intestinos. Segundo Cone e Becker (2012), há uma variação substancial na cinética de fermentação *in vitro* de diferentes fontes de amido e as diferenças não são observadas apenas para a degradação final, mas também para a taxa de degradação, podendo resultar em diferenças na produção de ácidos graxos de cadeia curta (Hindle et al., 2005).

A inclusão de diferentes fontes energéticas nas dietas de ruminantes influencia a fermentação ruminal e, portanto, leva à variabilidade dos produtos da fermentação, destacando-se a produção do metano (Beauchemin e McGinn, 2005; Popova et al., 2013), pois, além dos problemas ambientais, a produção de CH<sub>4</sub> representa significativas perdas de energia alimentar para o animal (Johnson & Johnson, 1995). Assim, a disponibilidade e sincronização na degradação de compostos nitrogenados e carboidratos no rúmen são determinantes para que se obtenha máxima eficiência microbiana e redução das perdas decorrentes da fermentação ruminal (Sniffen et al., 1992).

A utilização da ureia em substituição ao farelo de soja pode ser uma alternativa potencial para redução dos custos das dietas utilizadas na alimentação de ruminantes, devido ao seu menor custo por unidade de nitrogênio. No entanto, ao substituir fontes de proteína verdadeira por nitrogênio não proteico (NNP) na dieta de ruminantes, pressupõe-se que as populações de microrganismos ruminais podem ser afetadas, tanto pela necessidade de aminoácidos e peptídeos utilizados pelos microrganismos



fermentadores de carboidratos não fibrosos, para síntese de suas proteínas (Russel et al., 1992), quanto pela necessidade de ácidos graxos de cadeia ramificada, utilizados pelas bactérias celulolíticas (Van Soest, 1994).

Objetivou-se avaliar o efeito de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia sobre a fermentação ruminal *in vitro* e o perfil da população de microrganismos ruminais.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de fermentabilidade ruminal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/Universidade de São Paulo (FZEA/USP), em Pirassununga, SP. Todos os procedimentos e técnicas utilizadas foram realizados com autorização da Comissão de Ética Ambiental na Experimentação, bem como da Comissão Interna de Ética no Uso de Animais.

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados, com quatro tratamentos (dietas) e cinco blocos (inóculos). As dietas foram formuladas com base nas recomendações do NRC (2007). Foram testadas diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, em substituição ao farelo de soja, tendo como volumoso o feno de Tifton-85 (relação volumoso: concentrado 58:42) e as associações: fubá de milho + farelo de soja; fubá de milho + ureia; raspa de mandioca + ureia e palma forrageira + ureia (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1.** Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base da matéria seca (g/kg MS)

Itens	Feno de Tifton-85	Fubá de milho	Farelo de soja	Raspa de mandioca	Palma forrageira
Matéria seca <sup>1</sup>	912	895	882	883	97
Matéria orgânica	923	982	932	976	871
Matéria mineral	77	18	68	23	129
Proteína bruta	84	100	480	35	54
Extrato etéreo	15	53	16	5	11
Fibra em detergente neutro <sup>2</sup>	699	134	122	53	250
Fibra em detergente ácido	375	46	109	33	137
Lignina <sup>3</sup>	30	7	5	7	10
Carboidratos totais	824	829	436	937	805
Carboidratos não fibrosos	125	695	313	883	555

<sup>1</sup>g/kg de peso fresco; <sup>2</sup>corrigida para cinzas e proteína (FDNcp); <sup>3</sup>corrigida para cinzas.

**Tabela 2.** Proporção dos ingredientes e composição química das dietas

Ingredientes	Tratamentos (g/kg MS)			
	Milho + Farelo de soja	Milho + ureia	Raspa de mandioca + ureia	Palma + ureia
Feno de Tifton-85	583	584	583	583
Farelo de soja	170	0	0	0
Fubá de milho	240	385	0	0
Raspa de mandioca	0	0	377	0
Palma forrageira	0	0	0	379
Ureia	0	22	30	28
Sulfato de amônia	0	2	3	3
Mistura mineral <sup>1</sup>	7	7	7	7
Total	1000	1000	1000	1000
Composição química				
Matéria seca (g/kg peso fresco)	903,5	907,9	904,2	217,6
Matéria orgânica	929,3	938,3	936,7	896,4
Matéria mineral	70,7	63,9	66,7	107,0
Proteína bruta	154,0	149,1	146,2	147,9
Extrato etéreo	24,3	29,2	10,7	13,1
Fibra em detergente neutro <sup>2</sup>	458,2	457,5	425,3	500,0
Fibra em detergente ácido	247,1	235,6	229,9	269,3
Lignina <sup>3</sup>	20,2	20,4	20,1	21,6
Carboidratos totais	750,9	798,3	832,3	783,0
Carboidratos não fibrosos	292,8	340,4	405,7	283,0

<sup>1</sup>Níveis de garantia assegurados pelo fabricante (g/kg): Cálcio-150g; Enxofre-12g; Fósforo-65g; Magnésio-6.000mg; Sódio-107g; Cobre-100mg; Cobalto-175mg; Ferro-1000mg; Iodo-75mg; Manganês-1440mg; Selênio-27mg; Zinco-6000mg; Flúor máximo-650mg. <sup>2</sup>FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp); <sup>3</sup>corrigida para cinzas.

Os ingredientes foram pré-secos em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas e moídos a 1 mm de diâmetro em moinho de facas tipo Willey. A composição química foi determinada de acordo com os procedimentos da AOAC (2000) para matéria seca (MS; ID 934.01), cinzas (ID 942.05), matéria orgânica (MO; ID 930.05) e proteína bruta (PB; ID 968.06). O extrato etéreo (EE) foi determinado por extração em éter etílico no extrator ANKOM XT<sup>10</sup> (ANKOM Technology Corporation, Macedon, NY, USA). O conteúdo de fibra em detergente neutro (FDN) foi determinado com adição de  $\alpha$ -amilase termoestável, correção para cinzas residuais conforme descrito por Mertens (2002), e correção da proteína residual (FDNcp) conforme Licitra et al. (1996). A concentração de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LDA) foi determinada sequencialmente de acordo com Van Soest et al. (1991). Os carboidratos totais (CHT) foram calculados segundo Sniffen et al (1992):  $CHT = 100 - (PB + EE + cinzas)$  e os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados com base na equação proposta por Hall (2000):  $CNF (g/kg) = 1000 - [(PB - PB \text{ derivada da ureia} + ureia) + FDNcp + EE + MM]$ .

Foram utilizados cinco bovinos Nelore (*Bos taurus indicus*) adultos, dotados de fistula permanente no rúmen, como doadores de inóculo. Os animais foram mantidos em pastagem de gramíneas tropicais, suplementada com concentrado a base de milho e farelo de soja, com livre acesso a água e mistura mineral.

Para preparo dos inóculos, às 06 h da manhã, antes da primeira alimentação, foram coletadas separadamente e individualmente amostras da fase sólida e líquida do conteúdo ruminal de cada animal. A fase sólida foi coletada manualmente e armazenada em caixas térmicas aquecidas à 39 °C. A fase líquida foi coletada com auxílio de uma bomba a vácuo e armazenada em garrafas térmicas pré-aquecidas. Para cada animal doador foi preparado um inóculo. Para preparação dos inóculos as frações foram homogeneizadas, na proporção 1:1, em liquidificador durante 10 segundos e filtradas em três camadas de tecido de algodão, de acordo com Bueno et al. (2005). Os inóculos foram mantidos em banho maria (39 °C) sendo saturados constantemente com CO<sub>2</sub> até o uso.

Foram realizados dois ensaios, utilizando a técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases, segundo Theodorou et al. (1994) e Maurício et al. (1999). No primeiro ensaio (metanogênese), o tempo final de incubação foi de 24 h. Já no segundo ensaio (cinética de produção de gases), o tempo final de incubação foi de 96 h.

No primeiro ensaio, aproximadamente 500 mg da dieta, seca e moída a 1 mm de diâmetro, foi colocado em duplicata, em frascos de vidro, com capacidade para 160 mL, adicionando-se 25 mL de inóculo e 50 mL de solução mineral tamponada, obtida a partir de soluções de macro e micro minerais, soluções tampão, redutora e indicadora, sendo continuamente saturada com CO<sub>2</sub> e mantida a 39 °C até a utilização. Em seguida, os frascos foram vedados com rolhas de borracha e mantidos em estufa de ventilação forçada a 39 °C. Para cada inóculo, além das dietas experimentais, foram incubados dois frascos sem amostra, utilizados como branco, para correção dos dados. Após 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 h de incubação, foi mensurada a pressão interna dos frascos utilizando um transdutor (PressData 800®) e os valores utilizados para estimativa do volume de gases produzidos, a partir da equação definida para as condições laboratoriais do ensaio:  $V = p \times 6,4278$ , onde V = volume de gases (mL) e p = pressão (psi).

Para análise da concentração de CH<sub>4</sub>, após cada leitura, com auxílio de uma

microseringa, foram coletados 2,0 mL dos gases produzidos e estocados em tubos Vacutainer®. Após a última leitura, os frascos foram colocados em recipiente com água gelada para cessar a fermentação e, em seguida, foram abertos. Para determinação da DMS e DMO, o material remanescente da incubação foi transferido dos frascos para cadinhos filtrantes, mantidos em estufa a 105 °C por 24 h e, depois, incinerados a 550 °C. O fator de partição (FP) foi obtido pela relação entre a degradação da matéria orgânica (mg) e a produção de gases (mL) (Blümmel et al., 1997).

No ensaio para avaliação da cinética de produção cumulativa de gases, foi incubado aproximadamente 1 g de amostra, 10 mL do inóculo ruminal e 90 mL da solução mineral, em frascos de vidro (capacidade 160 mL), seguindo os mesmos procedimentos descritos no ensaio de metanogênese. A pressão interna nos frascos foi mensurada após 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 60, 72 e 96 h de incubação e os valores obtidos transformados em volume pela equação:  $V = p \times 4,6788$ . As curvas de produção cumulativa de gases foram ajustadas através do modelo proposto por France et al. (1993):

$$V_T = V_F \{1 - \exp[-b(t - L) - c(\sqrt{t} - \sqrt{L})]\}$$

onde:  $V_T$  = produção cumulativa de gases (mL) no tempo  $t$ ;  $V_F$  = potencial máximo de produção de gases (assíntota);  $L$  = tempo de colonização;  $t$  = tempo de incubação;  $b$  ( $h^{-1}$ ) e  $c$  ( $h^{-0,5}$ ) = taxas fracionais constantes.

Foram estimadas, também através do modelo de France et al. (1993), a taxa de fermentação ( $\mu$ ):  $\mu = b + c/(2\sqrt{t})$  e o tempo necessário para atingir a metade do potencial de produção de gases ( $T^{1/2}$ ):

$$T^{1/2} = \left[ \frac{-c/2 \pm \sqrt{(c^2/4 + b(bL + c\sqrt{L} + \ln 2))}}{b} \right]^2$$

As concentrações de  $CH_4$  foram determinadas por cromatografia gasosa, utilizando-se uma coluna microempacotada Shincarbon, conforme descrito por Sallam et al. (2010). A curva de calibração foi gerada injetando-se metano (99% de pureza) como padrão.

Após o término das incubações, foram coletadas amostras de líquido ruminal de cada frasco incubado, as quais foram congeladas para posteriores análises, sendo 2 mL para determinação das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), 2 mL

para nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e 2 mL para reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) em tempo real.

As concentrações de N-NH<sub>3</sub> foram quantificadas pelo método micro-kjeldahl, de acordo com protocolo descrito por Preston (1995). A determinação das concentrações de AGCC produzidos na fermentação *in vitro* foi realizada por cromatografia gasosa com coluna Stabilwax conforme Erwin et al. (1961), com adaptações de Getachew et al. (2002).

A extração de DNA das amostras de líquido ruminal provenientes das incubações foi realizada utilizando o Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega), seguindo os procedimentos recomendados pelo fabricante. A quantificação da concentração de DNA total extraída foi determinada utilizando o espectrofotômetro De Novix (DS-11).

A quantificação absoluta dos microrganismos ruminais (bactérias totais, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Streptococcus bovis*, *Archaea* totais e protozoários) foi realizada por reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qPCR). Os primers utilizados para as reações encontram-se descritos na Tabela 3. Inicialmente, a eficiência de amplificação de cada par de primers foi calculada a partir de curva padrão com diluições seriadas 2x. Os valores do ciclo threshold (Ct) obtidos para cada ponto foram plotados em função do logaritmo de cada concentração de DNA, para obtenção da inclinação da curva padrão. A eficiência de amplificação (E) foi calculada aplicando-se os valores de inclinação (slope) das curvas padrão no algoritmo:  $E = (10^{-1/\text{slope}} - 1) \times 100$  (Lee et al., 2006). Todos os pares de primers produziram eficiências entre 98 e 103% e foram considerados apropriados para as análises de quantificação.

Para quantificação absoluta das concentrações de DNA bacteriano e de protozoários, foram feitas curvas padrão utilizando diluições de 10x de produtos de PCR convencional previamente obtidos utilizando os mesmos primers utilizados para as quantificações por qPCR, conforme descrito por Dhanasekaran et al. (2010). As reações de PCR convencional para obtenção desses produtos para cada par de primer foram preparadas com volume final de 25 µL, contendo 50 ng de DNA, 0,3 nM de cada primer, 12,5 µL de DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific) e água ultrapura MilliQ, utilizando o ProFlex™ 3 x 32 poços PCR System (Applied

**Tabela 3.** Primers utilizados para quantificação dos microrganismos ruminais, por meio do ensaio de reação em cadeia da polimerase (qPCR) em tempo real

Microrganismo alvo	Forward/Reverse	Primer sequences (5'-3')	Referência
Protozoa	F	GCTTTCGWTGGTAGTGTATT	Sylvester et al. (2004)
	R	CTTGCCCTCYAATCGTWCT	
Bactérias totais	F	CGGCAACGAGCGCAACCC	Denman e McSweeney (2006)
	R	CCATTGTAGCACGTGTGTAGC	
Archaea	F	AATTGGAKTCAACGCCGGR	Poulsen et al. (2013)
	R	TGGGTCTCGCTCGTTG	
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	F	GTCGGAATTACTGGGCGTAA	Denman e McSweeney (2006)
	R	CGCCTGCCCTGAACTAT	
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	F	CGAACGGAGATAATTTGAGTTTACTTAGG	Denman e McSweeney (2006)
	R	CGGTCTCTGTATGTTATGAGGTATTAC	
<i>Streptococcus bovis</i>	F	TTCCTAGAGATAGGAAGTTTCTTCGG	Stevenson e Weimer (2007)
	R	ATGATGGCAACTAACAATAGGGGT	

Biosystems). As condições de ciclagem consistiram em 35 ciclos de desnaturação a 94 °C durante 1 minuto, anelamento do primer a 60 °C durante 30 segundos e extensão a 72 °C durante 30 segundos, precedidos por 3 min de desnaturação inicial a 94 °C e seguidos por uma extensão final a 72 °C durante 5 minutos. Os amplicons foram então purificados utilizando-se o QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen), quantificados no NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) a 260 nm e imediatamente utilizados nas curvas padrão. As curvas padrão foram repetidas três vezes para cada par de primers, produzindo resultados muito semelhantes, o que assegurou a confiabilidade dos padrões.

As reações de qPCR foram realizadas em triplicata, utilizando-se o 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). O volume final de cada reação foi de 10 µL, contendo: 15 ng de DNA, 300 nM de cada primer, 5 µL de GoTaq® qPCR Master Mix (Promega) e água ultrapura MilliQ. Em cada placa, foi utilizado um controle negativo sem DNA para detectar possíveis contaminantes ou a formação de dímeros de primers. O programa de ciclagem foi: desnaturação inicial de 94 °C durante 10 segundos, seguido de 40 ciclos de 94 °C durante 15 segundos para desnaturação e 60 °C durante 1 minuto para anelamento do primer e extensão da polimerase. Após a amplificação, uma curva de dissociação (melt curve) foi gerada, aumentando-se a temperatura a taxa de 0,5 °C a cada 30 segundos de 55 a 95 °C.

Os valores de Ct obtidos foram convertidos para ng de DNA a partir das curvas padrão produzidas anteriormente. Essas concentrações em ng foram então convertidas em número de cópias de DNA, utilizando o método Godornes et al. (2007) pela equação:

$$\text{Número de cópias} = \frac{6.022 \times 10^{23} \text{ (moléculas/mole)} \times \text{massa DNA (ng)}}{\text{Número de pares de bases} \times 660 \text{ daltons}}$$

As curvas de ajuste e as estimativas dos parâmetros de interesse biológico foram realizadas pelo processo iterativo de Marquardt, com auxílio do procedimento para modelos não-lineares (PROC NLIN) do Software estatístico SAS (Statistical Analysis System, version 9.0).

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento de modelos lineares generalizados (PROC GLM) do SAS (version 9.0), segundo o modelo

matemático:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Onde:  $Y_{ij}$  = uma observação no tratamento  $i$  e no bloco  $j$ ,  $\mu$  = média da população,  $t_i$  = efeito do tratamento  $i$ ,  $\beta_j$  = efeito fixo do bloco  $j$  e  $\varepsilon_{ij}$  = erro experimental.

As médias dos tratamentos foram calculadas pelo procedimento LSmeans (SAS, 2002) e usadas para múltiplas comparações por meio do teste Tukey, sendo consideradas diferenças significativas para ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Após 24h de incubação, a dieta contendo raspa de mandioca + ureia resultou em maior ( $P < 0,05$ ) produção total de gases, maior ( $P < 0,05$ ) produção de metano em mL/g MOD e em percentual da produção total de gases, e menor ( $P < 0,05$ ) fator de partição (Tabela 4). Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) das dietas sobre a degradação da matéria orgânica (DMO g/kg).

No ensaio de 24h, a concentração total de AGCC (mmol/g MOD), acetato, propionato e butirato não foram afetadas ( $P > 0,05$ ) pelas dietas (Tabela 4). Entretanto, as concentrações de isobutirato e isovalerato foram menores ( $P < 0,05$ ) para a dieta raspa + ureia, comparada as dietas milho + farelo de soja e palma + ureia. As concentrações de valerato foram menores para as dietas milho + ureia e raspa + ureia, em relação a milho + farelo de soja. A relação acetato/propionato foi maior ( $P < 0,05$ ) para raspa de mandioca + ureia.

Após 96 h de incubação, a concentração total de AGCC (mmol/g MOD) e a concentração de propionato não foi afetada ( $P > 0,05$ ) pelas dietas experimentais (Tabela 5). Porém, a concentração de acetato e a relação acetato/propionato foi maior ( $P < 0,05$ ) para a dieta contendo palma + ureia. A dieta raspa + ureia resultou em menor concentração de isobutirato, em relação à dieta milho + farelo de soja e maior ( $P < 0,05$ ) concentração de butirato. Por outro lado, as concentrações de isovalerato e valerato foram maiores ( $P < 0,05$ ) para a dieta milho + farelo de soja.



**Tabela 4.** Degradação da matéria orgânica (DMO), fator de partição e produtos da fermentação de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, após 24 h de incubação

Variáveis	Tratamentos				Média	EPM <sup>2</sup>	P
	Milho + F. soja	Milho + ureia	Raspa + ureia	Palma + ureia			
DMO (g/kg)	538,56	532,62	534,22	501,03	526,61	6,86	0.1963
Produção total de gases (mL/g MOD)	320,94 <sup>b</sup>	304,49 <sup>b</sup>	351,70 <sup>a</sup>	311,07 <sup>b</sup>	322,05	7,28	0.0098
CH <sub>4</sub> (mL/g MOD)	27,13 <sup>b</sup>	24,81 <sup>b</sup>	33,09 <sup>a</sup>	24,22 <sup>b</sup>	27,31	1,16	<.0001
CH <sub>4</sub> (%)	8,43 <sup>b</sup>	8,11 <sup>b</sup>	9,38 <sup>a</sup>	7,74 <sup>b</sup>	8,42	0,19	0.0002
Fator de partição	3,14 <sup>ab</sup>	3,31 <sup>a</sup>	2,87 <sup>b</sup>	3,26 <sup>a</sup>	3,15	0,07	0.0173
NH <sub>3</sub> (mg/100 mL)	29,47 <sup>ab</sup>	31,05 <sup>a</sup>	26,52 <sup>b</sup>	27,88 <sup>b</sup>	28,73	0,79	0.0200
Total AGCC (mmol/g MOD) <sup>1</sup>	20,87	20,84	21,69	23,43	21,71	0,63	0.1887
Acetato	13,59	13,56	14,40	15,67	14,30	0,46	0.0805
Propionato	3,60	3,50	3,44	4,05	3,65	0,10	0.0709
Isobutirato	0,28 <sup>a</sup>	0,25 <sup>ab</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,25	0,01	0.0158
Butirato	2,68	2,95	3,12	2,78	2,88	0,13	0.1703
Isovalerato	0,46 <sup>a</sup>	0,38 <sup>ab</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,39	0,02	0.0032
Valerato	0,27 <sup>a</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,24 <sup>ab</sup>	0,23	0,01	0.0064
Acetato/propionato	3,78 <sup>b</sup>	3,89 <sup>b</sup>	4,16 <sup>a</sup>	3,88 <sup>b</sup>	3,93	0,07	0.0005

\*Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem (P>0,05) estatisticamente pelo teste de Tukey.

<sup>1</sup>AGCC = ácidos graxos de cadeia curta.

<sup>2</sup>EPM = Erro padrão da média.

**Tabela 5.** Parâmetros do modelo de France et al. (1993), degradação da matéria orgânica (DMO), fator de partição e produtos da fermentação de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, após 96 h de incubação

Variáveis	Tratamentos				Média	EPM <sup>6</sup>	P
	Milho + F.soja	Milho + ureia	Raspa + ureia	Palma + ureia			
Vf (mL/g MS) <sup>1</sup>	225,6 <sup>b</sup>	230,6 <sup>b</sup>	255,2 <sup>a</sup>	220,2 <sup>b</sup>	232,87	4,01	0.0002
b (h <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	0,062 <sup>b</sup>	0,066 <sup>b</sup>	0,076 <sup>a</sup>	0,066 <sup>b</sup>	0,067	0,002	0.0100
L (h) <sup>3</sup>	2,8	3,6	3,3	3,9	3,41	0,18	0.2146
Taxa de fermentação (μ)	0,015	0,018	0,020	0,019	0,018	0,001	0.4610
T <sup>1/2</sup> (h) <sup>4</sup>	25,7 <sup>a</sup>	26,5 <sup>a</sup>	23,5 <sup>b</sup>	27,7 <sup>a</sup>	25,83	0,51	0.0006
DMO (g/kg)	752,4 <sup>a</sup>	738,6 <sup>a</sup>	748,3 <sup>a</sup>	706,9 <sup>b</sup>	736,56	4,96	0.0015
Produção de gases (mL/g MS)	222,8 <sup>b</sup>	228,6 <sup>b</sup>	259,8 <sup>a</sup>	218,9 <sup>b</sup>	232,52	4,51	<.0001
Produção de gases (mL/g MO)	239,7 <sup>b</sup>	243,6 <sup>b</sup>	277,4 <sup>a</sup>	244,3 <sup>b</sup>	251,23	4,47	<.0001
Fator de partição	3,14 <sup>a</sup>	3,04 <sup>ab</sup>	2,71 <sup>c</sup>	2,90 <sup>bc</sup>	2,95	0,05	0.0003
N-NH <sub>3</sub> (mg/100 mL)	32,6 <sup>ab</sup>	33,3 <sup>a</sup>	27,4 <sup>c</sup>	28,3 <sup>bc</sup>	30,43	0,88	0.0055
Total AGCC (mmol/g MOD) <sup>5</sup>	10,7	10,3	10,2	11,7	10,72	0,25	0.1579
Acetato	5,7 <sup>b</sup>	5,6 <sup>b</sup>	5,4 <sup>b</sup>	7,0 <sup>a</sup>	5,93	0,17	0.0026
Propionato	2,8	2,5	2,4	2,8	2,60	0,07	0.1201
Isobutirato	0,142 <sup>a</sup>	0,094 <sup>ab</sup>	0,078 <sup>b</sup>	0,084 <sup>b</sup>	0,099	0,01	0.0341
Butirato	1,64 <sup>b</sup>	1,83 <sup>ab</sup>	2,09 <sup>a</sup>	1,56 <sup>b</sup>	1,78	0,07	0.0059
Isovalerato	0,21 <sup>a</sup>	0,13 <sup>b</sup>	0,12 <sup>b</sup>	0,13 <sup>b</sup>	0,15	0,01	<.0001
Valerato	0,20 <sup>a</sup>	0,15 <sup>b</sup>	0,14 <sup>b</sup>	0,16 <sup>b</sup>	0,16	0,01	0.0016
Acetato/propionato	2,08 <sup>c</sup>	2,28 <sup>b</sup>	2,26 <sup>b</sup>	2,53 <sup>a</sup>	2,29	0,05	<.0001

\*Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem (P>0,05) estatisticamente pelo teste de Tukey.

<sup>1</sup>Vf = potencial máximo de produção de gases.

<sup>2</sup>b = taxa fracional do modelo.

<sup>3</sup>L = lag time.

<sup>4</sup>T<sup>1/2</sup> = tempo necessário para atingir a metade do potencial máximo de fermentação

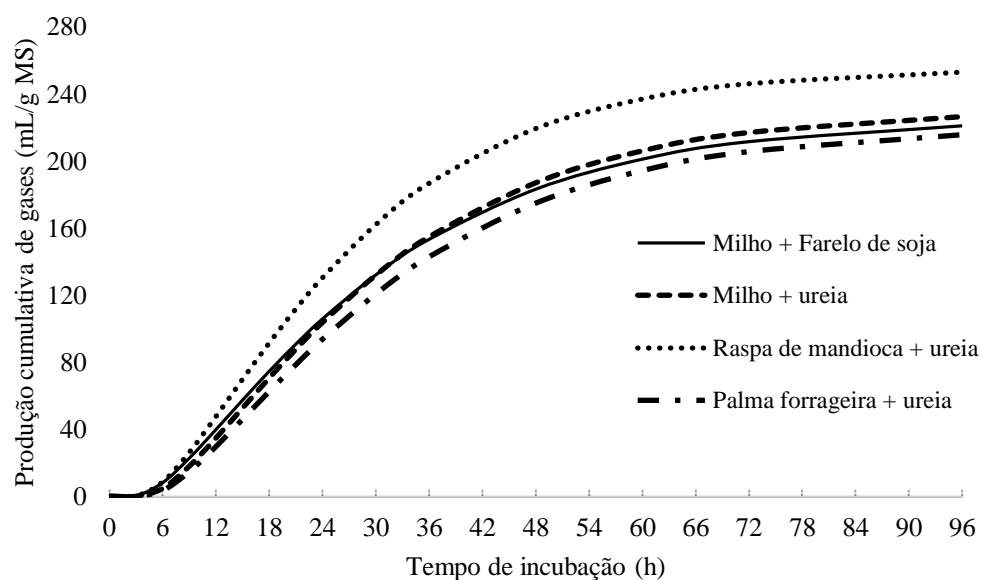
<sup>5</sup>AGCC = ácidos graxos de cadeia curta.

<sup>6</sup>EPM = Erro padrão da média.

As concentrações de  $\text{N-NH}_3$  foram maiores ( $P<0,05$ ) para a dieta milho + ureia, comparada às dietas raspa de mandioca + ureia ou palma + ureia (Tabela 4 e 5).

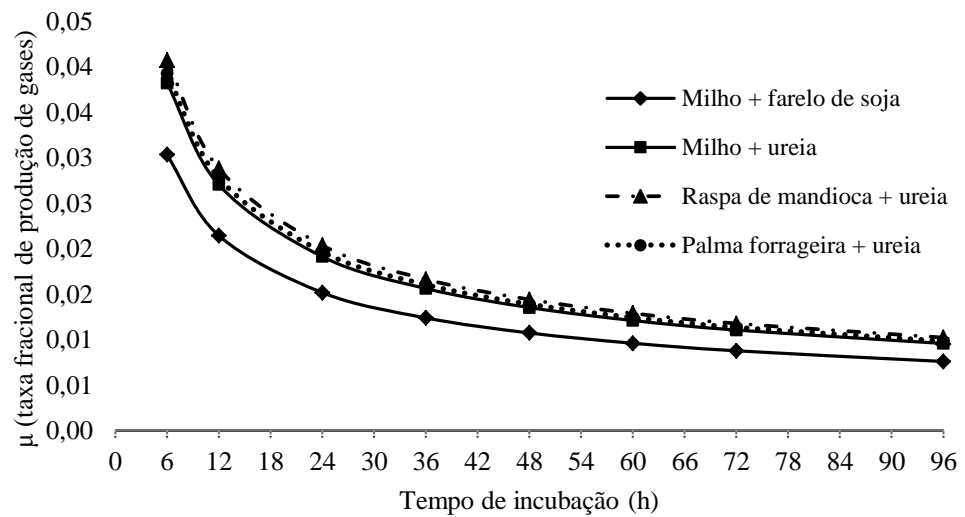
A dieta contendo raspa de mandioca + ureia apresentou maior ( $P<0,05$ ) potencial máximo de produção de gases ( $V_f$ ), maior ( $P<0,05$ ) produção cumulativa de gases ( $\text{mL/g MS}$  e  $\text{mL/g MO}$ ), maior ( $P<0,05$ ) taxa fracional de degradação ( $b, \text{h}^{-1}$ ) e menor ( $P<0,05$ ) tempo necessário para atingir metade do potencial máximo de degradação ( $T^{1/2}$ ), enquanto as outras dietas foram similares (Tabela 5). Não houve efeito ( $P>0,05$ ) das dietas para o lag time ( $L, \text{h}^{-1}$ ) e a taxa fracional de produção de gases ( $\mu, \text{h}^{-1}$ ).

A curva de produção cumulativa de gases mostrou que, a partir das 12 h de incubação, a produção de gases foi maior ( $P<0,05$ ) para a dieta raspa de mandioca + ureia, comparada as outras dietas (Fig. 1). Para todas as dietas, o  $\mu$  foi maior ( $P<0,05$ ) nos tempos iniciais de degradação (Fig. 2).



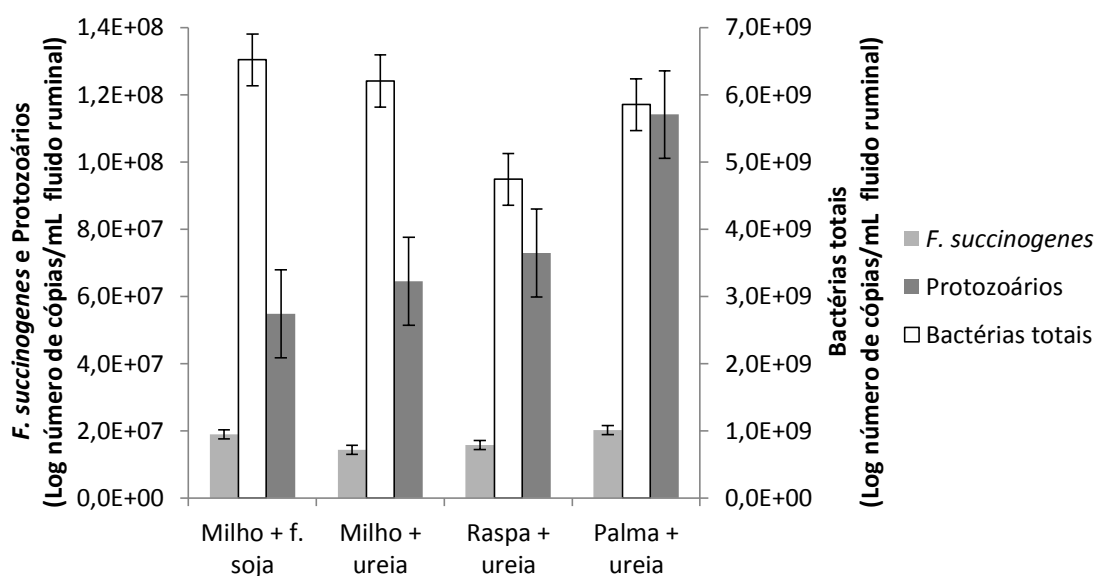
**Fig. 1.** Cinética de produção cumulativa de gases de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, após 96 h de incubação.

Após 96 h de incubação, a dieta contendo palma forrageira + ureia resultou em menor ( $P<0,05$ ) degradação da matéria orgânica (DMO  $\text{g/kg}$ ) (Tabela 5). O fator de partição (FP) foi menor para a dieta raspa de mandioca + ureia, comparada às dietas milho + farelo de soja ou milho + ureia.



**Fig. 2.** Taxa fracional de fermentação de dietas contendo diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, após 96 h de incubação.

No ensaio de 24 h não houve efeito ( $P>0,05$ ) das dietas sobre as populações de microrganismos ruminais avaliadas (Fig. 3 e 4). Após 96 h de incubação, as dietas raspa + ureia e palma + ureia resultaram em menor ( $P<0,05$ ) população de *Ruminococcus flavefaciens*, comparada a dieta milho + ureia (Fig. 6), e *Streptococcus bovis*, comparada a dieta milho + farelo de soja (Fig. 5). O número de bactérias totais, Archaea metanogênicas (Fig. 5), *Fibrobacter succinogenes* e protozoários (Fig. 6) não foi afetado pelas dietas ( $P>0,05$ ).



**Fig. 3.** Abundância da população de *Fibrobacter succinogenes*, protozoários e bactérias totais, após 24 h de incubação *in vitro* com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia.

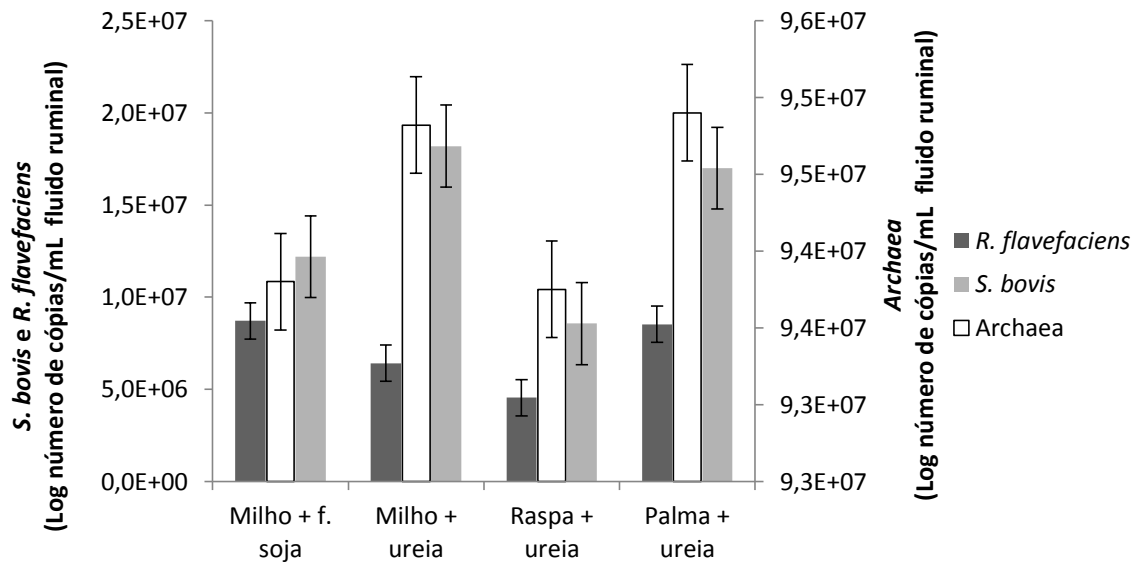


Fig. 4. Abundância da população de *Streptococcus bovis*, *Ruminococcus flavefaciens* e Archaea metanogênicas, após 24 h de incubação *in vitro* com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia.

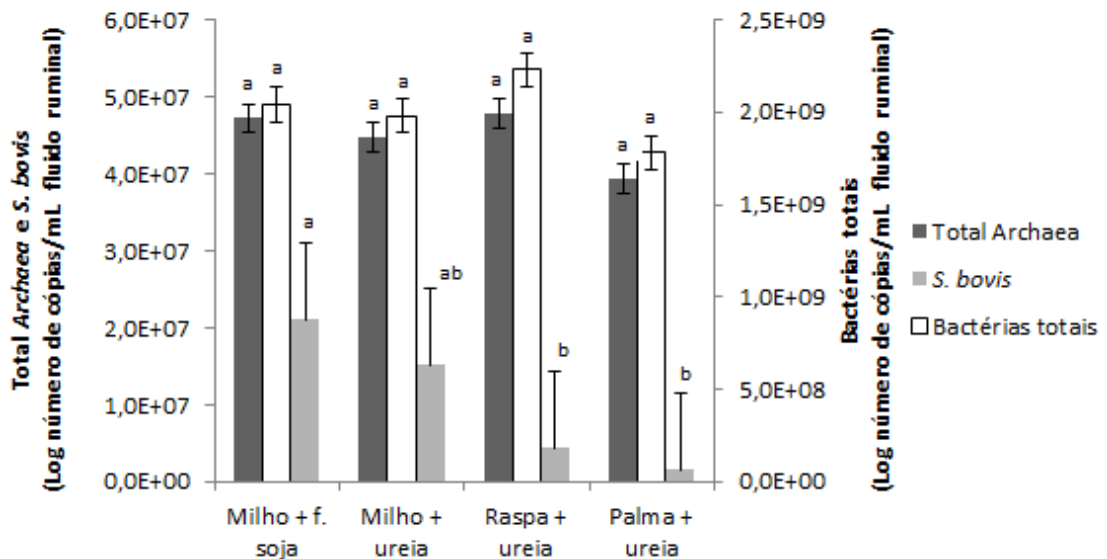


Fig. 5. Abundância da população de *Streptococcus bovis*, bactérias totais e Archaea, após 96 h de incubação *in vitro* com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia.

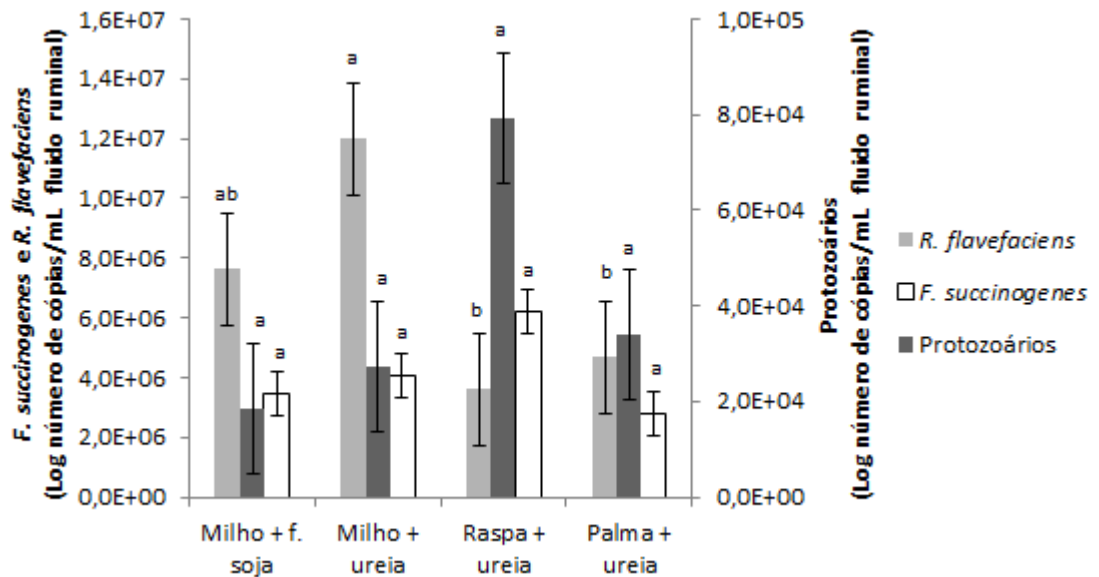


Fig. 6. Abundância da população de *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* e protozoários, após 96 h de incubação *in vitro* com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia.

## DISCUSSÃO

Observou-se que a dieta contendo raspa de mandioca + ureia mostrou maior potencial de produção de gases, apresentando maior produção cumulativa de gases, bem como maior percentual de  $\text{CH}_4$ . Entretanto, a DMO foi semelhante às dietas contendo milho, o que reduziu a eficiência de fermentação. As dietas contendo ureia alteraram a produção de AGCC, reduzindo as concentrações dos ácidos graxos de cadeia ramificada (isobutirato e isovalerato) nos dois ensaios e aumentando a relação acetato/propionato, após 96 h de incubação, principalmente a dieta palma + ureia, que teve menor degradação da matéria orgânica e direcionou a fermentação para maior produção de acetato. As dietas contendo ureia, sobretudo aquelas que foram utilizadas maiores quantidades de ureia para formulação das dietas (raspa + ureia e palma + ureia), afetaram negativamente as populações microbianas de *R. flavefaciens* e *Streptococcus bovis*.

As dietas milho + farelo de soja, milho + ureia e raspa + ureia foram semelhantes na DMO, embora a dieta contendo raspa de mandioca tenha produzido mais  $\text{CH}_4$ . Este resultado demonstra uma fermentação menos eficiente, uma vez que a

produção de  $\text{CH}_4$  representa perdas significativas de energia do alimento. Por outro lado, a produção total de gases (PTG) das dietas milho + farelo de soja, milho + ureia e palma + ureia foi menor, por isso, o fator de partição dessas dietas (razão entre a degradação da MO e a PTG) foi mais elevado e a produção de  $\text{CH}_4$  menor, expressando maior eficiência de síntese microbiana (Blümmel et al., 2005; Makkar, 2004), devido a maior incorporação da MO. A esse respeito, El-Waziry (2007) explicou que o perfil de produção de gás não tem necessariamente relação linear com a degradação dos alimentos, mas pode ser influenciada por sua composição química, pois esta apresenta relação direta com a degradação.

A maior PG da dieta contendo raspa de mandioca ocorreu devido a maior concentração de CNF deste ingrediente. Há maior produção de gás a partir dos CNF, devido à maior disponibilidade de carboidratos rapidamente fermentáveis (El-Waziry, 2007; Tosto et al., 2015). Aliada a composição química, a maior taxa de degradação observada para a dieta raspa + ureia e o menor tempo necessário para atingir metade do potencial máximo de fermentação podem justificar o maior potencial de PG desta dieta. Segundo (Zeoula et al., 1999), dietas a base de raspa de mandioca apresentam fermentação mais rápida e completa no rúmen, comparadas as dietas a base de milho. Isto se deve não apenas à composição química do amido, mas também devido às características da parede celular vegetal.

Isto pode explicar também a superioridade da curva de produção cumulativa de gases da dieta contendo raspa de mandioca, a partir das 12 h de incubação. Corroborando com os resultados encontrados nesta pesquisa, Cone e Becker (2012), determinando a cinética de fermentação de alimentos amiláceos, observaram que a degradação completa dos alimentos ocorreu após 12 h de incubação em fluido ruminal. A respeito do comportamento das taxas de fermentação ( $\mu$ ), Van Soest (1994) e Bueno et al. (2010) explicam que nos tempos iniciais de incubação o  $\mu$  é sempre maior, devido a degradação dos CNF.

As menores concentrações de ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR, isobutirato e isovalerato) obtidas no fluido ruminal proveniente das dietas contendo ureia, provavelmente ocorreram devido à reduzida deaminação microbiana de aminoácidos de cadeia ramificada (Nguyen et al., 2005), precursores dos AGCR (Saro et al., 2014), uma vez que o NNP foi a principal fonte de N nestas dietas. Khattab et al.

(2013), trabalhando com ovinos alimentados com dietas suplementadas com níveis crescentes de ureia, também observaram comportamento semelhante.

Esperava-se que a maior concentração de CNF na dieta contendo raspa de mandioca resultasse em elevação na concentração de propionato no fluido ruminal e consequente redução na relação acetato/propionato; no entanto, após 24 h de incubação a relação acetato/propionato foi maior. Estes resultados sugerem que provavelmente ocorreu menor crescimento das populações de microrganismos produtores de propionato (Ex: *Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*) como consequência da redução da população de *Streptococcus bovis*, produtoras de lactato, e *R. flavefaciens*, produtoras de succinato, principais substratos utilizados pelas bactérias que produzem propionato (Russel, 2002). Já no ensaio de 96 h de incubação, observou-se maior produção de acetato pela dieta palma + ureia, o que consequentemente aumentou a relação acetato/propionato. A presença de pectina dentre os CNF na palma pode explicar esse resultado, pois, segundo Van Soest (1994), a pectina contribui para maior produção de acetato.

As dietas contendo ureia também afetaram negativamente a produção de valerato, o que evidencia o efeito da redução da população de *Streptococcus bovis* sobre a população de *Megasphaera elsdenii*, por se tratar de uma bactéria ruminal produtora desse AGCC (Russel, 2002). Assim, destaca-se a importância da integração do metabolismo ruminal, pois o ecossistema ruminal tem como característica a existência de relações de competição e interdependência entre as espécies microbianas, resultando na otimização do uso dos substratos no meio (Kozloski, 2011).

As maiores concentrações de N-NH<sub>3</sub> encontradas nos dois ensaios para a dieta contendo milho + ureia, comparada as dietas contendo raspa ou palma, podem estar relacionadas com a assincronia na disponibilização de energia, a partir da degradação do milho, e a taxa de solubilização da ureia, gerando quantidades de amônia superior à capacidade de utilização pelos microrganismos. Segundo Russel et al. (1992), altas proporções de amônia podem resultar em perdas nitrogenadas quando há falta de esqueletos de carbono prontamente disponíveis para a síntese de proteína microbiana. A amônia produzida em excesso é então transportada através do epitélio ruminal para a corrente sanguínea. Sustentando esta hipótese, Santos (2017) (dados não publicados), testando o efeito das mesmas dietas deste estudo na alimentação de ovinos em



crescimento, encontrou maior concentração de ureia circulante nos animais alimentados com milho + ureia.

O ensaio de 24 h de incubação não foi suficiente para observação de diferenças nas populações de microrganismos avaliadas, porém, após 96 h de incubação foi possível identificar efeitos das dietas sobre as populações de microrganismos. A menor população de *Streptococcus bovis* nas dietas contendo ureia, sobretudo nas dietas em que foram utilizadas maiores quantidades de ureia (raspa + ureia e palma + ureia), provavelmente deve-se a ausência de aminoácidos e peptídeos pré-formados para que essa espécie microbiana possa sintetizar suas proteínas.

De acordo com Russel et al. (1992), as populações microbianas são agrupadas de acordo com as exigências em fontes de carbono e compostos nitrogenados. As bactérias fermentadoras de CNF, tais como *S. bovis*, utilizam principalmente aminoácidos ou peptídeos (em torno de 66%) para seu crescimento. Em contraste, a participação da ureia contribuiu com mais de 50% do N total dessas dietas, evidenciando a necessidade de inclusão de maior quantidade de proteína verdadeira.

Em relação a população de *R. flavefaciens*, estas fermentam os carboidratos fibrosos e utilizam  $\text{NH}_3$  e AGCR para síntese de suas proteínas (Van Soest, 1994). Assim, supõe-se que a população de *R. flavefaciens* foi afetada pela redução das concentrações de AGCR nas dietas contendo ureia, sobretudo para as dietas raspa de mandioca + ureia e palma + ureia.

## CONCLUSÕES

A dieta contendo raspa de mandioca tem maior potencial de degradação, entretanto, produz mais  $\text{CH}_4$ , reduzindo a eficiência de fermentação microbiana.

Dietas contendo ureia em substituição total ao farelo de soja alteram a produção de ácidos graxos de cadeia curta e reduzem as populações de *Streptococcus bovis* e *Ruminococcus flavefaciens*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 15th ed. AOAC International, Arlington, VA, 2000.

BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 653–661, 2005.

BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *In vitro* gas production: a technique revisited. **Journal of Animal Physiology and Nutrition**, v.77, p.24-34, 1997.

BLÜMMEL, M; GIVENS, D. I.; MOSS, A. R. Comparison of methane produced by straw fed sheep in open-circuit respiration with methane predicted by fermentation characteristics measured by an *in vitro* gas procedure. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.379-390, 2005.

BUENO, I. C. S. et al. Comparison of *in situ* and *in vitro* dry matter rumen degradability of three distinct quality hays in sheep. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v.12, p.321-332, 2010.

BUENO, I. C. S. et al. Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.95-105, 2005.

CONE, J. W.; BECKER, P. M. Fermentation kinetics and production of volatile fatty acids and microbial protein by starchy feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 172, p. 34-41, 2012.

DENMAN, S. E.; MCSWEENEY, C. S. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen. **FEMS Microbiology and Ecology**, v. 58, p. 572–582, 2006.

DHANASEKARAN, S. et al. Comparison of different standards for real-time PCR-based absolute quantification. **Journal of Immunological Methods**, v.1-2, p. 34-39, 2010.

EL-WAZIRY, A. M. Nutritive Value Assessment of Ensiling or Mixing Acacia and Atriplex Using *In Vitro* Gas Production Technique. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v.3, p.605-614, 2007.

ERWIN, E. S., MARCO, G. J., EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, p. 1768–1771, 1961.

FRANCE, J. et al. A model to interpret gas accumulation profiles with *in vitro* degradation of ruminant feeds. **Journal of Theoretical Biology**, v.163, p.99-111, 1993.

GETACHEW, G., MAKKAR, H. P. S., BECKER, K. Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. **The Journal of Agricultural Science**, v. 139, p 341–352, 2002.

GODORNES, C. et al. Quantitation of rabbit cytokine mRNA by real-time RT-PCR. **Cytokine**, v. 38, p. 1, 2007.

HALL, M. B. **Calculation of Non-structural Carbohydrate Content of Feeds That Contain Non-protein Nitrogen**. University of Florida, Gainesville (2000).

HINDLE, V. A. et al. Site and extent of starch degradation in the dairy cow– a comparison between *in vivo*, *in situ* and *in vitro* measurements. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 89, p. 158–165, 2005.

JOHNSON, K. A., JOHNSON, D. E. Methane emissions from beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2483–2492, 1995.

KHATTAB, I. M. et al. Effects of urea supplementation on nutrient digestibility, nitrogen utilisation and rumen fermentation in sheep fed diets containing dates. **Livestock Science**, v. 155, p. 223–229, 2013.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2.ed. Santa Maria, RS: Editora UFSM, 2011. 140p.

LEE, C. et al. Absolute and relative qPCR quantification of plasmid copy number in *Escherichia coli*. **Journal of Biotechnology**, v. 123, p. 453, 2006.

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

MAKKAR, H. P. S. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. In: **Assessing quality and safety of animal feeds**. FAO Animal Production and Health Series 160. FAO, Rome, p.55-88, 2004.

MAURÍCIO, R. M. et al. A semiautomated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.321-330, 1999.

MERTENS D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feed with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal AOAC Int.** 85, 1217-1240, 2002.

NGUYEN, H. V. et al. Change in nitrogen fractions and ruminal nitrogen degradability of Orchard grass ensiled at various moisture contents and the subsequent effects on nitrogen utilization by sheep. Asian-Aust. **Journal of Animal Science**, v. 18, p. 1267-1272, 2005.

NRC, NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids.** Washington, D.C.: National Academy Press, 2007. 384p.

POPOVA, M.; MORGAVI, D. P.; MARTIN, C. Methanogens and methanogenesis in the rumens and ceca of lambs fed two different high-grain-content diets. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, p. 1777-1786, 2013.

POULSEN, M. et al. Methylophilic methanogenic Thermoplasmata implicated in reduced methane emissions from bovine rumen. **Nature communications**, 4:1428 | DOI: 10.1038/ncomms2432, 2013.

PRESTON, T. R. Biological and chemical analytical methods. In: Preston, T.R. (Ed.), **Tropical Animal Feeding: a Manual for Research Workers.** FAO, Rome, 1995, p. 191-264.

RUSSELL J. B. **Rumen Microbiology and Its Role in Ruminant Nutrition.** Ithaca, NY. 2002, 121p.

RUSSELL, J. B. et al. A net carbohydrate and protein 47 system for evaluating cattle diets: I. Ruminal Fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3553-3561, 1992.

SALLAM, S. et al. Effect of eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) fresh or residue leaves on methane emission *in vitro*. Ital. **Journal of Animal Science**, v. 9, p. 299-303, 2010.

SARO, C. et al. Influence of forage type in the diet of sheep on rumen microbiota and fermentation characteristics. **Livestock Science**, v. 160, p. 52–59, 2014.

SAS, STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. Version 9.1.3. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2002.

SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v 70, p. 3562–3577, 1992.

STEVENSON, D. M.; WEIMER, P. J. Dominance of *Prevotella* and low abundance of classical ruminal bacterial species in the bovine rumen revealed by relative quantification real-time PCR. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 75, p. 165-174, 2007.

SYLVESTER, J. T. et al. Development of an assay to quantify rumen ciliate protozoal biomass in cows using real-time PCR. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3378-3384, 2004.

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.185-197, 1994.

TOSTO, M. S. L. et al. *In vitro* rumen fermentation kinetics of diets containing oldman saltbush hay and forage cactus, using a cattle inoculum. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.1, p.149-158, 2015.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2.ed., Ithaca: Cornell University, 1994, 476p.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

ZEOULA, L. M. et al. Solubilidade e degradabilidade ruminal do amido de diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.905-912, 1999.

## **CAPÍTULO 2**

---

Efeito de diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia sobre o desempenho produtivo e o perfil metabólico de ovinos Santa Inês em terminação

Efeito de diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia sobre o desempenho produtivo e perfil metabólico de ovinos Santa Inês em terminação

### RESUMO

A fonte de carboidratos e compostos nitrogenados utilizada na dieta de ruminantes influencia diretamente sua utilização no rúmen, culminando em alterações sobre o fluxo de nutrientes para os intestinos e sobre o desempenho dos animais. Assim, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia, sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes, desempenho, utilização do nitrogênio e perfil metabólico sanguíneo de cordeiros em terminação. Foram utilizados 40 cordeiros, Santa Inês, machos não castrados, com peso corporal inicial médio de  $22,8 \pm 2,1$  kg, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. Foram testadas quatro dietas, tendo como volumoso o feno de Tifton-85 (580 g/kg de matéria seca) e as associações: milho + farelo de soja; milho + ureia; raspa de mandioca + ureia e palma forrageira + ureia. Os cordeiros alimentados com palma + ureia tiveram menor consumo ( $P < 0,05$ ) de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), lignina, carboidratos totais (CHT), carboidratos não fibrosos e energia; menor digestibilidade aparente ( $P < 0,05$ ) da MS, MO e CHT, bem como menor peso corporal final e ganho médio diário (g/dia). Contudo, apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) concentração sérica de magnésio, maior ( $P < 0,05$ ) volume urinário (L/dia) e maior eficiência microbiana (relação entre o fluxo de N microbiano (g/dia) e a matéria orgânica digestível fermentada no rúmen em kg/dia). As dietas contendo milho resultaram em maior retenção ( $P < 0,05$ ) de nitrogênio e maior concentração sérica de triglicerídeos, colesterol e fósforo. As fontes de carboidratos milho, raspa de mandioca ou palma forrageira, em associação com a ureia, em dietas para cordeiros em terminação, não permite o mesmo desempenho de animais consumindo milho + farelo de soja. Dietas contendo milho + ureia propiciam taxa de ganho em peso corporal de 200 g/dia.

**Palavras-chave:** Colesterol, Cordeiros, Metabolismo energético, Palma forrageira, Proteína microbiana, Raspa de mandioca

Effect of different carbohydrate sources associated with urea on the productive performance and metabolic profile of Santa Inês sheep in finishing

**ABSTRACT**

The carbohydrates and nitrogen compounds source used in the ruminant diet directly influences its use in the rumen, resulting in changes in the flow of nutrients to the intestines and the animal performance. Thus, the objective was to evaluate the effect of different carbohydrates sources associated with urea, on the intake, nutrient digestibility, performance, nitrogen utilization and blood metabolic profile of lambs in finishing. Forty lambs, Santa Inês, uncastrated male, with mean body weight of  $22.8 \pm 2.1$  kg, were used in a completely randomized design. Four diets were tested, with Tifton-85 hay (580 g/kg of dry matter) as forage and corn + soybean meal; corn + urea; cassava scraping + urea and cactus pear + urea. The lambs fed with cactus + urea had lower ( $P < 0.05$ ) dry matter intake (DM), organic matter (OM), lignin, total carbohydrates (TCH), non-fibrous carbohydrates and energy; lower ( $P < 0.05$ ) apparent digestibility of DM, OM and TCH, as well as lower final body weight and mean daily gain (g/day). However, they presented a higher ( $P < 0.05$ ) serum concentration of magnesium, higher urinary volume and higher microbial efficiency (relationship between microbial N flux (g/day) and digestible organic matter fermented in the rumen in kg/day). Diets containing corn resulted in higher ( $P < 0.05$ ) nitrogen retention and higher serum concentration of cholesterol, triglycerides and phosphorus. The carbohydrates sources: corn, cassava scraping or cactus pear, in association with urea, in diets for finishing lambs, do not allow the same performance of animals consuming corn + soybean meal. Diets containing corn + urea provide a gain rate in body weight of 200 g/day.

**Keywords:** Cactus pear, Cassava scraping, Cholesterol, Energy metabolism, Lambs, Microbial Protein



## INTRODUÇÃO

As oscilações climáticas têm intensificado a ocorrência de secas frequentes e prolongadas em regiões Semiáridas, afetando a disponibilidade dos recursos alimentares para a produção animal. Nestas condições, fontes de alimentação alternativas têm sido investigadas, buscando atender as exigências nutricionais dos animais e sustentar a produtividade e rentabilidade dos sistemas de produção (Wadhwa e Bakshi, 2013). Estas alternativas visam a substituição dos grãos de cereais tradicionalmente utilizados na alimentação de ruminantes, tais como o milho e o farelo de soja, devido à competição por estes ingredientes no mercado, associada aos preços elevados.

Entre os ingredientes testados como fonte energética alternativa ao milho, a raspa de mandioca, obtida a partir da desidratação da raiz integral da mandioca na forma de pequenos pedaços, destaca-se como um recurso de alta energia para alimentação de ruminantes. Este ingrediente apresenta alta concentração de amido e, além disso, demonstra versatilidade na sua utilização e características agrícolas que permitem o cultivo em diferentes condições de tecnificação e épocas do ano (Santos et al., 2015).

Os estudos realizados em regiões Semiáridas também têm demonstrado que a palma forrageira (*Opuntia ficus* e *Nopalea cochenillifera*) apresenta potencial para substituir o milho em rações para terminação de ovinos, devido as suas características nutricionais, como o valor energético e o alto coeficiente de digestibilidade da matéria seca, além da adaptabilidade às condições de solo e clima da região (Costa et al., 2012). Porém, ressalta-se que para formulação de dietas balanceadas é necessária a associação de ingredientes energéticos com uma fonte de nitrogênio, tendo em vista o adequado crescimento dos microrganismos ruminais.

Neste sentido, em função da taxa e extensão da digestão da fração dos carboidratos não fibrosos, os ingredientes energéticos requerem uma fonte de nitrogênio de rápida disponibilização, como a ureia. A utilização da ureia como fonte de nitrogênio não proteico (NNP), além de aumentar o conteúdo de proteína das dietas para ruminantes, tem sido um importante elemento no aumento da rentabilidade, devido ao seu menor custo por unidade de nitrogênio, comparada as fontes de proteína verdadeira (Felix et al., 2014). Contudo, segundo Sahoo & Walli (2008), a fonte de nitrogênio utilizada na dieta de ruminantes, bem como a sua taxa de degradação, influencia

diretamente a utilização do nitrogênio e da energia no rúmen, culminando em alterações sobre o fluxo de nutrientes para o intestino delgado e conseqüentemente sobre o desempenho dos animais.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito de dietas contendo milho, raspa de mandioca ou palma forrageira como fontes de energia associadas à ureia, sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes, desempenho, utilização do nitrogênio e perfil metabólico sanguíneo de cordeiros Santa Inês em terminação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Ovinocultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Brasil. Todos os procedimentos foram realizados com autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFRPE), processo número 23082.003752/2015 e licença 052/2015.

Foram utilizados 40 cordeiros, Santa Inês, machos não castrados, com peso corporal inicial médio de  $22,8 \pm 2,0$  kg. Os animais foram submetidos ao controle de ecto e endoparasitos e vacinados contra clostridioses. Em seguida, foram alojados em baias individuais, com dimensões de 1,0 m x 1,8 m, dispostas em aprisco coberto, com acesso a água e alimentos *ad libitum*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo o peso corporal inicial utilizado como covariável. O período experimental teve duração de 76 dias, com os 20 primeiros dias destinados à adaptação dos animais às instalações, às dietas e ao manejo, e os 56 dias restantes para avaliação e coleta de dados.

As dietas foram formuladas com base nas recomendações do NRC (2007) para obtenção de taxa de ganho em peso médio diário de 200 g/animal/dia, sendo fornecidas na forma de mistura completa. Foram testadas quatro dietas, tendo como volumoso o feno de Tifton-85 (580 g/kg de matéria seca) e as associações: fubá de milho + farelo de soja; fubá de milho + ureia; raspa de mandioca + ureia e palma forrageira + ureia. A composição química dos ingredientes encontra-se apresentada na Tabela 1 e a proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais na Tabela 2.

A palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*) foi processada em picadora estacionária imediatamente antes do fornecimento e misturada manualmente com os

outros ingredientes da dieta para agregação das partículas na mucilagem da palma. A raspa de mandioca foi obtida após processamento da raiz inteira da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em picadora estacionária e secagem do material ao sol. As dietas foram ofertadas duas vezes ao dia, às 08:00 h e às 16:00 h. A quantidade fornecida foi ajustada diariamente, com base no consumo voluntário do dia anterior, estabelecendo-se sobras de 15% como critério. Para cálculo do consumo voluntário, a quantidade de alimento ofertado e as sobras foram pesadas diariamente. O consumo dos nutrientes foi calculado por meio da subtração entre a concentração dos nutrientes na dieta ofertada e a concentração dos nutrientes nas sobras.

**Tabela 1.** Composição química dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais com base da matéria seca (g/kg MS)

Ítems	Feno de Tifton-85	Fubá de milho	Farelo de soja	Raspa de mandioca	Palma forrageira
Matéria seca <sup>a</sup>	912	895	882	883	97
Matéria orgânica	923	982	932	976	871
Matéria mineral	77	18	68	23	129
Proteína bruta	84	100	480	35	54
Extrato etéreo	15	53	16	5	11
Fibra em detergente neutro <sup>b</sup>	699	134	122	53	250
Fibra em detergente ácido	375	46	109	33	137
Lignina <sup>c</sup>	30	7	5	7	10
Carboidratos totais	824	829	436	937	805
Carboidratos não fibrosos	125	695	313	883	555
Nutrientes digestíveis totais <sup>d</sup>	594	895	789	856	698
Energia metabolizável <sup>e</sup>	2,2	3,3	2,9	3,2	2,6

<sup>a</sup>g/kg de matéria natural; <sup>b</sup>corrigida para cinzas e proteína (FDNcp); <sup>c</sup>corrigida para cinzas; <sup>d</sup>calculado de acordo com Weiss (1993); <sup>e</sup>Mcal/kg MS.

A produção de matéria seca fecal foi obtida pelo método da coleta total de fezes, utilizando-se sacolas coletoras acopladas a cada animal. As fezes foram coletadas durante cinco dias (do 30º ao 34º dia do período experimental), sendo as sacolas coletoras esvaziadas às 06:00 e às 17:00 h, diariamente, em seguida, realizada a pesagem das fezes, identificação e amostragem de uma alíquota por animal e congelamento em freezer a -20 °C. No final do período experimental, as amostras de fezes foram descongeladas, homogeneizadas por animal e pré-secas à 55°C por 72 horas e em seguida processadas em moinho de facas tipo Willey, passando por peneira com crivos de 1 mm para determinação da composição química.

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) foram obtidos pela relação entre a quantidade de nutriente digerido e o consumido, conforme a equação: CDA

(g/kg) = [(nutriente ingerido – nutriente excretado)/nutriente ingerido] x 1000.

**Tabela 2.** Proporção dos ingredientes e composição química das dietas

Ingredientes	Tratamentos (g/kg MS)			
	Milho + F. soja	Milho + ureia	Raspa + ureia	Palma + ureia
Feno de Tifton-85	580	581	580	580
Farelo de soja	170	0	0	0
Fubá de milho	240	385	0	0
Raspa de mandioca	0	0	377	0
Palma forrageira	0	0	0	379
Ureia	0	22	30	28
Sulfato de amônia	0	2	3	3
Mistura mineral <sup>a</sup>	7	7	7	7
Calcário calcítico	3	3	3	3
Total	1000	1000	1000	1000
Composição química				
Matéria seca (g/kg peso fresco)	903,5	907,9	904,2	217,6
Matéria orgânica	929,3	938,3	936,7	896,4
Matéria mineral	70,7	63,9	66,7	107,0
Proteína bruta	154,0	149,1	146,2	147,9
Extrato etéreo	24,3	29,2	10,7	13,1
Fibra em detergente neutro <sup>b</sup>	458,2	457,5	425,3	500,0
Fibra em detergente ácido	247,1	235,6	229,9	269,3
Lignina <sup>c</sup>	20,2	20,4	20,1	21,6
Carboidratos totais	750,9	798,3	832,3	783,0
Carboidratos não fibrosos	292,8	340,4	405,7	283,0
Nutrientes digestíveis totais <sup>d</sup>	693,5	689,9	667,3	609,1
Energia metabolizável <sup>e</sup>	2,6	2,6	2,5	2,3

<sup>a</sup>Níveis de garantia assegurados pelo fabricante (g/kg): Cálcio-150g; Enxofre-12g; Fósforo-65g; Magnésio-6.000mg; Sódio-107g; Cobre-100mg; Cobalto-175mg; Ferro-1000mg; Iodo-75mg; Manganês-1440mg; Selênio-27mg; Zinco-6000mg; Flúor máximo-650mg. <sup>b</sup>FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp); <sup>c</sup>corrigida para cinzas; <sup>d</sup>Calculado de acordo com Weiss (1993); <sup>e</sup>Mcal/kg MS.

Amostras dos ingredientes ofertados e das sobras, coletadas durante todo o período experimental, foram armazenadas em freezer a -20 °C. Posteriormente, as amostras foram descongeladas e homogeneizadas, por animal, sendo elaborada uma amostra composta individual das sobras e dos alimentos fornecidos para determinação da composição química.

As amostras foram pré-secas em estufas de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas e moídas a 1 mm de diâmetro em moinho tipo Willey. Em seguida, foram utilizados os procedimentos da AOAC (2000) para determinação da matéria seca (MS; 934.01), cinzas (942.05), matéria orgânica (MO; 930.05) e proteína bruta (PB; 968.06). O extrato etéreo (EE) foi determinado por extração em éter etílico no extrator ANKOM XT<sup>10</sup> (ANKOM Technology Corporation, Macedon, NY, USA). O teor de fibra em

detergente neutro (FDN) foi determinado com uso de  $\alpha$ -amilase termoestável e correção para cinzas, segundo Mertens (2002), e correção para proteína (FDNcp), conforme Licitra et al. (1996). As concentrações de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LDA) foram determinadas segundo metodologia proposta por Van Soest et al. (1991). Os carboidratos totais (CHT) foram calculados segundo Sniffen et al (1992):  $CHT = 100 - (PB + EE + cinzas)$ . Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados com base na equação proposta por Hall (2000):  $CNF (g/kg) = 1000 - [(PB - PB \text{ derivada da ureia} + ureia) + FDNcp + EE + MM]$ .

Para estimativa da concentração de nutrientes digestíveis totais (NDT) dos ingredientes e das dietas foi utilizada a equação sugerida por Weiss (1993):  $NDT = 0,98 \times (100 - FDNn - PB - Cinzas - EE - 1) + 0,93 \times PB + 2,25 \times EE + 0,75 \times (FDNn - Lignina) \times [1 - (Lignina/FDNn)^{0,667}] - 7$ .

Onde: EE = extrato etéreo, FDNn = fibra em detergente neutro corrigida para nitrogênio, PB = proteína bruta, o fator 7 refere-se ao NDT recuperado nas fezes. A energia digestível foi estimada como ED (Mcal/kg) =  $0,04409 \times \%NDT$  e a concentração de energia metabolizável (EM) estimada como sendo 82% da ED.

O consumo de NDT foi calculado pela seguinte equação:  $NDT = PBD + 2,25 \times EED + FDNcpD + CNFD$ ; em que: PBD = proteína bruta digestível; EED = extrato etéreo digestível; FDNcpD = fibra em detergente neutro (corrigida para cinzas e proteína) digestível; CNFD = carboidratos não-fibrosos digestíveis.

Para avaliação do desempenho produtivo, os animais foram pesados no início e no final do período experimental para avaliação do desempenho. O ganho de peso corporal (GPC) foi obtido pela diferença entre o peso corporal final (PCF) e o peso corporal inicial (PCI); e o ganho médio diário (GMD) foi obtido a partir da relação entre o GPC e o total de dias do experimento. A conversão alimentar (CA), que representa a eficiência do processo de ganho de peso corporal, foi calculada pela relação entre o consumo de matéria seca (CMS kg/dia) e o GMD (kg/dia).

No 54º dia do período experimental, aproximadamente quatro horas após o fornecimento das dietas, foi realizada coleta de urina *spot*, durante micção espontânea. Uma alíquota de 10 mL de cada animal foi diluída em 40 mL de  $H_2SO_4$  (0,036 N), ajustando o pH final da urina para valores menor que três. Posteriormente, foram determinadas as concentrações de ureia, creatinina e derivados de purina por

espectrofotometria, conforme descrito por Chen e Gomes (1992), e nitrogênio total pelo método Kjeldahl (AOAC, 2000; método 968.06).

Para cálculo do volume urinário (VU) foi multiplicado o peso corporal (PC) pela excreção diária de creatinina (mg/kg PC) e dividiu-se o produto pela concentração de creatinina (mg/L) na urina *spot* de cada animal. A excreção diária de creatinina utilizada foi de 23,2 mg/kg de PC, obtida por Kozloski et al. (2005). O N absorvido (g/dia) foi obtido pela diferença entre o N ingerido e o excretado nas fezes, enquanto a retenção de N foi determinada deduzindo-se do N consumido (g/dia), o N excretado nas fezes e urina, em g/dia. O balanço de N foi calculado pela relação N retido/N consumido e N retido/ N absorvido.

Para estimativa da síntese de proteína microbiana, foram determinadas as concentrações dos derivados de purina (xantina, hipoxantina, ácido úrico e alantoína) presentes na urina. A excreção total de derivados de purina foi calculada por intermédio da soma das quantidades de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina (mmol/dia), segundo Chen e Gomes (1992). A relação quantitativa entre a absorção de purinas microbianas e a excreção de derivados de purina (DP) foi obtida a partir da equação:

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

Em que: Y é a excreção diária de DP na urina (mmol/d); 0,84 é a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas na urina; X é absorção diária de DP (mmol/d);  $0,150 PC^{0,75}$  é a contribuição endógena para a excreção de purinas e  $PC^{0,75}$  é o peso corporal metabólico (kg) do animal. O fluxo intestinal de N microbiano (g N/dia) foi estimado em função das purinas microbianas absorvidas (X, mmol/d), pela equação:

$$N \text{ microbiano (gN/d)} = X \text{ (mmol/d)} \times 70 / 0,83 \times 0,116 \times 1000$$

Onde: 70 representa o conteúdo de nitrogênio nas purinas (70 mg N/mmol); 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas, e 0,116, a relação N purina: N-total na massa microbiana (Chen e Gomes, 1992).

Para avaliação do perfil metabólico sanguíneo, no 54º dia do período experimental, aproximadamente quatro horas após o fornecimento das dietas, também foram coletados mediante punção da veia jugular, 10 mL de sangue em tubos vacutainer® sem anticoagulante, para obtenção do soro e 4 mL em tubos vacutainer® contendo fluoreto de sódio/EDTA, para obtenção do plasma. Imediatamente após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 1600g durante 15 minutos. Posteriormente,

foram realizadas as análises no laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Medicina Veterinária da URFPE.

Para as dosagens das concentrações plasmáticas de glicose e séricas de colesterol, triglicérides, ureia, creatinina, albumina, proteínas totais, ácido úrico, cálcio, fósforo inorgânico, magnésio e atividade da aspartato aminotransferase (AST) foram utilizados kits comerciais Labtest<sup>®</sup>, seguindo as recomendações do fabricante. Para as concentrações séricas de β-hidroxiacetato (BHA) e ácidos graxos não esterificados (AGNE) foram utilizados kits comerciais Randox<sup>®</sup> Laboratório. As dosagens dos metabólitos foram obtidas pela técnica de espectrofotometria, com as leituras realizadas no analisador bioquímico LabMax 240 (LABTEST Diagnostic SA, Brazil).

Os dados foram analisados utilizando o procedimento GLM do Software estatístico SAS (Statistical Analysis System, version 9.0), segundo o modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

Onde :  $Y_{ij}$  = observação,  $\mu$  = media da população,  $t_i$  = efeito do tratamento e  $\varepsilon_{ij}$  = erro experimental. O peso corporal inicial foi usado como covariável. As médias dos tratamentos foram comparadas por meio do teste Tukey (LSM), sendo consideradas diferenças significativas para ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Os cordeiros alimentados com palma forrageira + ureia tiveram menor consumo ( $P < 0,05$ ) de MS, MO, lignina, carboidratos totais, CNF, NDT e EM (Tabela 3). As dietas contendo raspa de mandioca + ureia e palma forrageira + ureia resultaram em menor ( $P < 0,05$ ) consumo de PB e EE. O consumo de FDNcp foi menor ( $P < 0,05$ ) para os animais alimentados com palma forrageira + ureia, não diferindo da dieta raspa de mandioca + ureia. A dieta contendo milho + farelo de soja proporcionou maior ( $P < 0,05$ ) consumo de FDA, enquanto as outras dietas foram similares.

A digestibilidade aparente da MS foi menor ( $P < 0,05$ ) para os animais alimentados com palma + ureia (Tabela 3). A dieta contendo palma também promoveu menor ( $P < 0,05$ ) digestibilidade da MO e dos CHT, comparada as dietas milho + ureia ou raspa + ureia.

**Tabela 3.** Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes em cordeiros alimentados com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia

Consumo	Tratamentos				Média	EPM <sup>3</sup>	P
	Milho + F. soja	Milho + ureia	Raspa + ureia	Palma + ureia			
Matéria seca (g/dia)	1149,8 <sup>a</sup>	1047,1 <sup>a</sup>	1002,5 <sup>a</sup>	800,0 <sup>b</sup>	1003,8	30,00	<,0001
Matéria seca (%PC)	3,8 <sup>a</sup>	3,7 <sup>a</sup>	3,6 <sup>a</sup>	3,1 <sup>b</sup>	3,6	0,07	0,0001
Matéria seca (g/PC <sup>0,75</sup> )	90,0 <sup>a</sup>	84,6 <sup>a</sup>	82,9 <sup>a</sup>	69,8 <sup>b</sup>	82,0	1,76	<,0001
Matéria orgânica (g/dia)	1067,6 <sup>a</sup>	980,6 <sup>a</sup>	936,8 <sup>a</sup>	710,5 <sup>b</sup>	927,7	30,00	<,0001
Proteína bruta (g/dia)	194,1 <sup>a</sup>	170,1 <sup>a</sup>	147,5 <sup>b</sup>	135,7 <sup>b</sup>	162,7	5,21	<,0001
Extrato etéreo (g/dia)	29,9 <sup>b</sup>	33,6 <sup>a</sup>	10,8 <sup>c</sup>	11,1 <sup>c</sup>	21,6	1,80	<,0001
FDNcp (g/dia) <sup>1</sup>	482,1 <sup>a</sup>	434,4 <sup>ab</sup>	400,0 <sup>bc</sup>	372,1 <sup>c</sup>	423,8	12,10	0,0001
FDA (g/dia) <sup>2</sup>	259,8 <sup>a</sup>	218,2 <sup>b</sup>	213,9 <sup>b</sup>	197,5 <sup>b</sup>	223,4	6,53	<,0001
Lignina (g/dia)	19,3 <sup>a</sup>	17,0 <sup>a</sup>	16,6 <sup>a</sup>	13,2 <sup>b</sup>	16,6	0,58	0,0001
Carboidratos totais (g/dia)	843,6 <sup>a</sup>	827,7 <sup>a</sup>	846,3 <sup>a</sup>	618,5 <sup>b</sup>	785,6	23,65	<,0001
Carboidratos não fibrosos (g/dia)	361,4 <sup>b</sup>	393,3 <sup>b</sup>	446,3 <sup>a</sup>	246,4 <sup>c</sup>	361,8	14,33	<,0001
Nutrientes digestíveis totais (kg/dia)	0,77 <sup>a</sup>	0,83 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,54 <sup>b</sup>	0,72	0,03	0,0001
Energia metabolizável (Mcal/kg MS)	2,78 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	2,77 <sup>a</sup>	1,95 <sup>b</sup>	2,63	0,09	0,0001
Digestibilidade aparente (g/kg)							
Matéria seca	664,5 <sup>a</sup>	688,4 <sup>a</sup>	695,6 <sup>a</sup>	596,6 <sup>b</sup>	661,3	10,33	0,0002
Matéria orgânica	672,2 <sup>ab</sup>	695,0 <sup>a</sup>	704,7 <sup>a</sup>	629,2 <sup>b</sup>	677,0	8,56	0,0027
Proteína bruta	744,6 <sup>b</sup>	769,7 <sup>ab</sup>	793,1 <sup>a</sup>	793,4 <sup>a</sup>	775,2	5,83	0,0026
Extrato etéreo	677,2 <sup>ab</sup>	767,1 <sup>a</sup>	606,5 <sup>b</sup>	607,1 <sup>b</sup>	662,8	19,79	0,0036
Fibra em detergente neutro	589,9	605,6	555,3	585,6	584,1	10,88	0,4382
Carboidratos totais	655,6 <sup>bc</sup>	699,7 <sup>ab</sup>	719,1 <sup>a</sup>	637,5 <sup>c</sup>	677,9	8,97	0,0009
Carboidratos não fibrosos	743,2 <sup>c</sup>	801,3 <sup>b</sup>	862,6 <sup>a</sup>	715,6 <sup>c</sup>	780,6	12,34	<,0001

\*Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem (P>0,05) estatisticamente pelo teste de Tukey.

<sup>1</sup>Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; <sup>2</sup>Fibra em detergente ácido.

<sup>3</sup>EPM = Erro padrão da média.



A digestibilidade da PB foi menor ( $P < 0,05$ ) para a dieta contendo milho + farelo de soja. Já a digestibilidade do EE foi maior ( $P < 0,05$ ) para as dietas contendo milho. Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) na digestibilidade aparente da FDN. A dieta contendo raspa proporcionou maior ( $P < 0,05$ ) digestibilidade aparente dos CNF.

O peso corporal final, o ganho de peso (GP) e GMD foram maiores ( $P < 0,05$ ) para os cordeiros recebendo a dieta contendo milho + farelo de soja e menor ( $P < 0,05$ ) para os animais alimentados com palma + ureia (Tabela 4). Os animais alimentados com milho + farelo de soja e milho + ureia foram mais eficientes ( $P < 0,05$ ) em converter o CMS em ganho de peso corporal.

Os animais alimentados com milho + farelo de soja apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) consumo de N e perda de N nas fezes, enquanto a dieta palma + ureia resultou em menor consumo de N, perdas de N nas fezes e absorção de N (g/dia), comparado aos animais recebendo as dietas contendo milho (Tabela 4). A retenção de N (g/dia) foi maior ( $P < 0,05$ ) nos animais alimentados com milho + farelo de soja, comparado à dieta palma + ureia. A absorção de N em relação ao consumido (N absorvido % consumido) foi menor nos animais alimentados com milho + farelo de soja. Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) na excreção urinária de N (g/dia), retenção de N em relação ao N consumido (N retido % consumido) ou em relação ao absorvido (N retido % absorvido).

Os cordeiros alimentados com palma + ureia tiveram maior ( $P < 0,05$ ) volume urinário (L/dia), em relação àqueles alimentados com milho + ureia e raspa + ureia, e menor ( $P < 0,05$ ) excreção diária de creatinina (mg/dia), comparado as dietas contendo milho (Tabela 5). A excreção urinária de ureia (g/dia), alantoína, xantina + hipoxantina, derivados de purina totais, absorção total de purinas (mmol/dia), fluxo intestinal de N microbiano e a síntese de proteína microbiana (g/dia) não foram afetadas pelas dietas experimentais ( $P > 0,05$ ). A excreção urinária de ácido úrico (mmol/dia) foi maior ( $P < 0,05$ ) para os cordeiros que receberam as dietas milho + farelo de soja e raspa + ureia. A eficiência microbiana, representada pela relação entre o fluxo de N microbiano (g/dia) e a matéria orgânica digestível fermentada no rúmen (MODR) (kg/dia) foi maior ( $P < 0,05$ ) para os animais alimentados com palma + ureia, enquanto as outras dietas foram similares.

**Tabela 4.** Desempenho produtivo e balanço de nitrogênio (N) de cordeiros alimentados com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia

Variáveis	Tratamentos				Média	EPM <sup>1</sup>	P
	Milho + F. soja	Milho + ureia	Raspa + ureia	Palma + ureia			
Peso corporal inicial (kg)	23,3	22,8	22,8	22,2	22,8	0,32	0,6956
Peso corporal final (kg)	36,4 <sup>a</sup>	34,0 <sup>b</sup>	32,2 <sup>c</sup>	29,4 <sup>d</sup>	32,9	0,58	<,0001
Ganho de peso (kg)	13,1 <sup>a</sup>	11,2 <sup>b</sup>	9,4 <sup>c</sup>	7,2 <sup>d</sup>	10,1	0,41	<,0001
Ganho médio diário (g/dia)	234,0 <sup>a</sup>	200,0 <sup>b</sup>	167,8 <sup>c</sup>	128,6 <sup>d</sup>	181	7,38	<,0001
Conversão alimentar	5,0 <sup>b</sup>	5,3 <sup>b</sup>	6,3 <sup>a</sup>	6,3 <sup>a</sup>	5,7	0,16	0,0003
Balanço de N							
N consumido (g/dia)	30,3 <sup>a</sup>	26,4 <sup>b</sup>	23,1 <sup>bc</sup>	21,6 <sup>c</sup>	25,3	0,866	<,0001
N fecal (g/dia)	7,8 <sup>a</sup>	6,1 <sup>b</sup>	5,0 <sup>bc</sup>	4,3 <sup>c</sup>	5,8	0,267	<,0001
N absorvido (g/dia)	22,5 <sup>a</sup>	20,3 <sup>ab</sup>	18,0 <sup>bc</sup>	17,3 <sup>c</sup>	19,5	0,638	0,0001
N urinário (g/dia)	13,1	11,7	10,7	12,3	12,0	0,630	0,5260
N retido (g/dia)	9,4 <sup>a</sup>	8,6 <sup>ab</sup>	7,3 <sup>ab</sup>	5,0 <sup>b</sup>	7,6	0,555	0,0267
N retido (% consumido)	31,4	31,9	32,1	23,8	29,8	1,974	0,4154
N retido (% absorvido)	42,4	41,5	41,2	29,7	38,7	2,574	0,2846
N absorvido (% consumido)	74,2 <sup>c</sup>	77,0 <sup>b</sup>	78,0 <sup>ab</sup>	80,1 <sup>a</sup>	77,3	0,463	<,0001

\*Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem (P>0,05) estatisticamente pelo teste de Tukey.

<sup>1</sup>EPM = Erro padrão da média.

**Tabela 5.** Excreção de metabólitos urinários e produção de proteína microbiana em cordeiros alimentados com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia

Variáveis	Tratamentos				Média	EPM <sup>2</sup>	P
	Milho + F. soja	Milho + ureia	Raspa + ureia	Palma + ureia			
Volume urinário (L/dia)	1,36 <sup>ab</sup>	1,13 <sup>b</sup>	1,05 <sup>b</sup>	1,96 <sup>a</sup>	1,40	0,075	0,0031
Excreção de creatinina (mg/dia)	830,3 <sup>a</sup>	766,7 <sup>ab</sup>	741,2 <sup>bc</sup>	682,1 <sup>c</sup>	755,1	8,891	<,0001
Excreção de ureia (g/dia)	27,2	29,0	23,7	23,5	25,9	1,186	0,3352
Alantoina (mmol/dia)	12,46	9,71	9,14	11,79	10,8	0,545	0,2345
Ácido Úrico (mmol/dia)	1,94 <sup>a</sup>	1,36 <sup>b</sup>	2,13 <sup>a</sup>	1,33 <sup>b</sup>	1,70	0,087	0,0002
Xantina + hipoxantina (mmol/dia)	0,36	0,33	0,32	0,38	0,35	0,016	0,6786
Purinas totais (mmol/dia)	14,76	11,40	11,60	13,51	12,82	0,579	0,2847
Purinas absorvidas (mmol/dia)	17,49	13,44	13,72	16,03	15,17	0,705	0,2877
N microbiano (g/dia)	12,71	9,77	9,97	11,65	11,03	0,513	0,2877
Proteína microbiana (g/dia)	79,46	61,06	62,34	72,82	68,92	3,204	0,2877
Fluxo microbiano (gN/kg MODR) <sup>1</sup>	27,84 <sup>b</sup>	23,09 <sup>b</sup>	23,81 <sup>b</sup>	40,67 <sup>a</sup>	28,85	0,868	0,0002

\*Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem ( $P>0,05$ ) estatisticamente pelo teste de Tukey.

<sup>1</sup>Matéria orgânica digestível fermentada no rúmen (MODR = consumo de MS x conteúdo de MO x digestibilidade da MO x 0,65; Chen e Gomes(1992)).

<sup>2</sup>EPM = Erro padrão da média.

As concentrações sanguíneas de glicose, AGNE, BHB, proteínas totais, creatinina, cálcio e a atividade enzimática da AST não diferiram ( $P>0,05$ ) (Tabela 6). Os triglicerídeos foram encontrados em maior ( $P<0,05$ ) concentração (mg/dL) nos cordeiros alimentados com milho + ureia e a concentração de colesterol foi maior nos animais consumindo milho + farelo de soja e milho + ureia. As concentrações de ureia (mmol/L) foram maiores ( $P<0,05$ ) nos cordeiros alimentados com milho + ureia e milho + farelo de soja. As concentrações de albuminas foram maiores nos animais alimentados com milho + farelo de soja. A concentração sérica de fósforo foi maior ( $P<0,05$ ) nos animais recebendo as dietas contendo milho e menor naqueles alimentados com palma, enquanto a concentração de magnésio foi maior ( $P<0,05$ ) nos cordeiros alimentados com palma, em relação a milho + ureia e raspa + ureia.

**Tabela 6.** Perfil metabólico sanguíneo de cordeiros alimentados com diferentes fontes de carboidratos associadas à ureia

Variáveis	Tratamentos				Média	EPM <sup>5</sup>	P
	Milho + F. soja	Milho + ureia	Raspa + ureia	Palma + ureia			
Glicose (mg/dL)	60,3	57,6	55,7	55,7	57,4	0,739	0,0713
Colesterol (mg/dL)	30,4 <sup>a</sup>	31,6 <sup>a</sup>	18,8 <sup>b</sup>	17,2 <sup>b</sup>	24,5	1,257	<,0001
Triglicérides (mg/dL)	16,3 <sup>b</sup>	26,5 <sup>a</sup>	13,4 <sup>b</sup>	16,3 <sup>b</sup>	18,1	1,138	<,0001
AGNE (mmol/L) <sup>1</sup>	0,87	0,82	0,91	0,94	0,88	0,041	0,7938
BHB (mmol/L) <sup>2</sup>	0,45	0,47	0,55	0,57	0,51	0,024	0,2445
Ureia (mmol/L)	8,3 <sup>ab</sup>	8,9 <sup>a</sup>	7,2 <sup>b</sup>	7,4 <sup>b</sup>	7,9	1,602	0,0149
Proteínas totais (g/L)	79	74	75	77	76	0,851	0,1461
Albuminas (g/L)	32 <sup>a</sup>	29 <sup>b</sup>	30 <sup>b</sup>	28 <sup>b</sup>	30	0,320	<,0001
Creatinina (mg/dL)	0,69	0,64	0,70	0,61	0,66	0,013	0,0856
AST (U/L) <sup>3</sup>	118,0	112,5	104,3	112,4	111,8	2,241	0,2109
Cálcio (mg/dL)	9,2	8,9	9,3	9,2	9,2	0,058	0,0633
Fósforo (mg/dL) <sup>4</sup>	8,4 <sup>ab</sup>	9,1 <sup>a</sup>	7,1 <sup>bc</sup>	6,6 <sup>c</sup>	7,8	0,239	0,0002
Magnésio (mg/dL)	2,6 <sup>ab</sup>	2,5 <sup>b</sup>	2,5 <sup>b</sup>	3,1 <sup>a</sup>	2,7	0,083	0,0235

\*Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem ( $P>0,05$ ) estatisticamente pelo teste de Tukey.

<sup>1</sup>Ácidos graxos não esterificados

<sup>2</sup> $\beta$ -hidroxibutirato

<sup>3</sup>Aspartato aminotransferase

<sup>4</sup>Fósforo inorgânico

<sup>5</sup>EPM = Erro padrão da média.

## DISCUSSÃO

Os CMS dos cordeiros alimentados com palma forrageira + ureia ficaram abaixo das recomendações (860 g/dia; 3,45 %PC) do NRC (2007) para a categoria animal avaliada. A substituição total do milho pela palma forrageira em associação com a ureia

provavelmente afetou a aceitação da dieta pelos animais, devido ao sabor amargo da ureia (Santos e Pedroso, 2011) associada à adesão da ureia a mucilagem gerada pelas pequenas partículas obtidas após o processamento da palma. Outro fator a ser considerado é a alta umidade (78,2%) da dieta contendo palma, o que pode ter contribuído para a menor ingestão de matéria seca desses animais, por limitação física do rúmen, uma vez que esta dieta foi constituída basicamente por forragens (feno e palma).

O menor CMS dos cordeiros alimentados com palma comprometeu o consumo de energia e dos nutrientes, o que explica os menores consumos de FDN, FDA, lignina, CHT e energia metabolizável observado para esses animais. Haja vista que o consumo de energia dos animais alimentados com palma + ureia foi inferior às exigências nutricionais (2,22 Mcal/d de EM) estabelecidas pelo NRC (2007), representando 85,6% da demanda total em energia, houve efeito negativo sobre o desempenho, com menor ganho de peso total (kg) e menor taxa de ganho médio diário (GMD g/dia), bem como piorou a conversão alimentar. Já o maior consumo de CNF dos animais alimentados com raspa + ureia é justificado pela maior concentração de CNF desta dieta. Porém, Santos (2017) (dados não publicados), avaliando a fermentação *in vitro* das mesmas dietas utilizadas nesta pesquisa, observou que a fermentação da dieta contendo raspa + ureia gera maior produção de metano, reduzindo a eficiência de fermentação, o que pode ser associado ao desempenho inferior dos animais, apesar do consumo de energia similar aqueles alimentados com as dietas contendo milho.

O maior consumo de EE dos animais alimentados com as dietas contendo milho é justificado pela maior concentração de EE neste ingrediente. No tocante ao menor CPB ( $P < 0,05$ ) dos animais alimentados com dietas contendo ureia, além das diferenças nos CMS, isso pode estar associado à substituição do farelo de soja pela ureia, devido à baixa aceitabilidade deste ingrediente, sobretudo para as dietas raspa de mandioca + ureia e palma + ureia. Pois, para tais dietas, foi necessária a utilização de maiores quantidades de ureia (30 e 28 g/kg MS, respectivamente), sendo a proporção de N proveniente da ureia correspondente a 57,6% e 53,2%, respectivamente, da proteína total da dieta, para obtenção de rações com teor de PB equivalente aos requerimentos dos animais.

Em relação aos coeficientes de digestibilidade aparente, a maior digestibilidade

dos CHT e dos CNF da dieta contendo raspa + ureia, seguida da dieta milho + ureia são justificados pela diferença em suas taxas de fermentação ruminal. Segundo Zeoula et al. (1999), dietas a base de raspa de mandioca caracterizam-se por uma fermentação mais rápida e completa no rúmen, apresentando degradabilidade efetiva do amido de 79,1%, comparadas a dietas a base de milho, com degradabilidade efetiva do amido de 57,8%.

Os maiores coeficientes de digestibilidade da PB observados para as dietas milho + ureia, raspa + ureia e palma + ureia podem ser atribuídos à substituição do farelo de soja por uma fonte de nitrogênio não proteico (ureia) nas dietas, haja vista que a ureia é rapidamente solubilizada a amônia ( $\text{NH}_3$ ) no rúmen. A semelhança na digestibilidade da PB das dietas milho + farelo de soja e milho + ureia provavelmente ocorreu devido à utilização do milho, pois segundo Ceconi et al. (2015), a PB do milho apresenta baixa degradabilidade ruminal.

O menor ganho de peso dos cordeiros alimentados com ureia associada ao milho ou a raspa de mandioca pode está também relacionado com uma menor eficiência de utilização do N, pois, apesar dos consumos de energia semelhantes, esses animais tiveram desempenho inferior àqueles alimentados com farelo de soja. No caso dos cordeiros que receberam palma + ureia, o consumo de energia foi inferior aos requerimentos dos animais, o que impossibilitou melhor desempenho. A dieta contendo milho + ureia proporcionou GMD de 200 g/d, atingindo o ganho pretendido na formulação das dietas, sinalizando a possibilidade de substituição total do farelo de soja pela ureia associada ao milho, sem prejuízos no desempenho e com possibilidade de redução nos custos de produção.

Devido ao menor consumo de PB dos cordeiros alimentados com palma + ureia, o consumo de N, a excreção de N nas fezes, a absorção e a retenção de N (g/dia) também foram menores para esses animais. Entretanto, o balanço de N foi positivo para todas as dietas experimentais, o que indica que não houve déficit proteico. Além disso, a excreção urinária de N e ureia foram similares entre as dietas, o que possivelmente ocorreu devido ao maior volume urinário dos animais alimentados com palma. A este respeito, Van Soest (1994) sugere que o *pool* de ureia corporal está sobre controle homeostático e tende a ser constante.

Vieira et al. (2008), fornecendo 375 g/kg MS de palma forrageira na dieta de caprinos, já haviam observado maior volume urinário com o aumento do nível de

palma. Os autores atribuíram o efeito diurético da palma a sua alta concentração de K, que exerceria efeito no epitélio renal. O menor volume urinário dos animais alimentados com as outras dietas também pode estar relacionado a maior utilização da água no metabolismo, uma vez que esses animais apresentaram maior consumo de nutrientes, tais como a PB, resultando em maior incremento calórico (Berchielli et al., 2011). Por outro lado, a ingestão de água, além das necessidades metabólicas, precisa ser excretada, contribuindo para o aumento do volume urinário.

Os resultados encontrados para excreção de creatinina provavelmente estão relacionados com o menor peso corporal final dos cordeiros alimentados com palma + ureia, pois, segundo Schutte et al. (1981), a creatinina é produto do metabolismo muscular, com taxa de produção geralmente constante, proporcional à massa muscular. Logo, os animais com menor ganho de massa corporal tiveram menor excreção diária de creatinina.

A melhoria na eficiência de síntese de N microbiano (gN/kg MODR) nos cordeiros alimentados com palma + ureia, comparada as outras dietas, provavelmente está relacionada com o fornecimento de uma fonte de energia mais rapidamente fermentável, pois, Batista et al. (2003) relataram que a fração dos carboidratos rapidamente degradáveis (açúcares e ácidos orgânicos) constituem 42% do total de carboidratos da palma forrageira, enquanto a fração com degradação intermediária (amido) corresponde a 19%. Os açúcares fermentam no rúmen mais rapidamente do que o amido ou a fibra, sendo atribuída uma taxa de fermentação de  $300\% \text{ h}^{-1}$  para os açúcares (Sniffen et al., 1992). Isto pode ter permitido melhor sincronização entre a disponibilização da energia e do N, de modo que a incorporação do NNP em N microbiano aumentou. Porém, apesar da melhor eficiência de síntese microbiana, o baixo consumo de MS e, conseqüentemente, de EM, não possibilitou melhor desempenho dos animais.

No tocante ao perfil metabólico sanguíneo, a maior concentração sérica de colesterol e triglicerídeos observados nos cordeiros alimentados com as dietas contendo milho é atribuída ao maior consumo de energia metabolizável desses animais. Em contraste, a diminuição pode indicar déficit energético, enfatizando a importância do balanceamento das dietas para adequado fornecimento dos nutrientes.

A respeito das maiores concentrações de ureia circulante observadas nos animais

que consumiram mais proteína, Van Soest (1994) e Freire et al. (2012) explicaram que elevadas concentrações de ureia no sangue são positivamente correlacionadas à ingestão de nitrogênio. Deve-se considerar também que a maior concentração de ureia circulante, sobretudo nos cordeiros alimentados com a dieta contendo milho + ureia, pode indicar desequilíbrio nas taxas de degradação da PB e carboidratos das dietas, pois, segundo Broderic e Clayton (1997), a concentração de ureia circulante elevada indica que a utilização da PB da dieta está ocorrendo de forma ineficiente.

A maior concentração sérica de albumina nos cordeiros alimentados com milho + farelo de soja provavelmente está relacionada com o consumo de proteína desses animais, uma vez que a albumina sérica é considerada um indicador do status nutricional proteico (Peixoto et al., 2010). De acordo com Khajehdizaj et al. (2014), concentrações reduzidas de proteínas totais e albuminas indicam deficiência de proteína e desnutrição, do contrário, pode-se supor que não houve deficiência. Neste sentido, supõem-se que o menor desempenho observado para os cordeiros alimentados com milho + ureia e raspa + ureia, em relação àqueles recebendo milho + farelo de soja, está relacionado a assincronia na degradação ruminal das fontes energéticas e proteica. Já os cordeiros alimentados com palma + ureia tiveram o desempenho comprometido devido o consumo de energia abaixo das exigências nutricionais.

A concentração sérica de fósforo nos animais alimentados com milho + ureia e milho + farelo de soja foram acima da variação esperada de 5,0 – 7,3 mg/dL (Kaneco et al., 2008), isto pode estar associado a uma baixa relação cálcio: fósforo, pois, o milho e o farelo de soja apresentam baixas concentrações de cálcio. Em contraste, a palma apresenta baixa concentração de fósforo e alta de cálcio (Batista et al., 2003), aumentando a relação cálcio: fósforo. Já a maior concentração sérica de magnésio nos cordeiros alimentados com palma + ureia pode ser explicada pelo alto teor de magnésio (17 g/kg de MS) na palma, conforme relatado por Batista et al. (2003).

## CONCLUSÕES

As fontes de carboidratos milho, raspa de mandioca ou palma forrageira em associação com a ureia, em dietas para cordeiros em terminação, não permitem o mesmo desempenho de animais consumindo dietas contendo milho + farelo de soja.



Dietas contendo milho em associação com a ureia, em substituição ao farelo de soja, propiciam taxa de ganho em peso corporal de 200 g/dia.

A palma forrageira permite melhor eficiência de utilização do nitrogênio não proteico.

Dietas contendo milho aumentam a concentração sérica de colesterol e triglicérides.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 15th ed. AOAC International, Arlington, VA, 2000.

BATISTA, A. M. V. et al. Effects of variety on chemical composition, in situ nutrient disappearance and in vitro gas production of spineless cacti. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 440–445, 2003.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 2. Ed. Jaboticabal: Funep, 2011, 616 p.

BRODERICK, G. A; CLAYTON, M. K. A. Statistical of animal and nutritional factors influencing concentration of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**. v. 80, n. 11, p. 2964-2971, 1997.

CECONI, I. et al. Effect of urea inclusion in diets containing dried corn distillers grains on feedlot cattle performance, carcass characteristics, ruminal fermentation, total tract digestibility, and purine derivatives-to-creatinine index. **Journal Animal Science**, v. 93, p. 357-69, 2015.

CHEN, X. B., GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Buchsburnd. Aberdeen: **Rowett Research Institute**. 21p. 1992.

COSTA, R. G. et al. Effects of replacing corn with cactus pear (*Opuntia ficus indica* Mill) on the performance of Santa Inês lambs. **Small Ruminant Research**, v. 102, p. 13-17, 2012.

FELIX, T. L.; LOERCH, S. C.; FLUHARTY, F. L. Protein supplementation for growing cattle fed a corn silage-based diet. **The Professional Animal Scientist**, v. 30, n. 3, p. 327-332, 2014.

FREIRE, L. D. R. et al. Uréia de Liberação Lenta em Dietas de Ovinos Confinados: Síntese de Proteína Microbiana. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 14, n. 2, p. 219-222, 2012.

HALL, M. B. **Calculation of Non-structural Carbohydrate Content of Feeds That Contain Non-protein Nitrogen**. University of Florida, Gainesville (2000).

KANECO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6<sup>th</sup> ed. Academic Press, San Diego, 2008, 916p.

KHAJEHDIZAJ, F. P.; TAGHIZADEH, A.; NOBAR, B. B. Effect of feeding microwave irradiated sorghum grain on nutrient utilization, rumen fermentation and serum metabolites in sheep. **Livestock Science**, v. 167, p. 161-170, 2014.

KOZLOSKI, G. V. et al. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p.98 – 102, 2005.

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

MERTENS D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feed with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal AOAC Int.** 85, 1217-1240, 2002.

NRC, NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. 7<sup>th</sup> ed., D.C.: National Academy Press, Washington, 2007. 384p.

PEIXOTO, L. A. O. et al. Desempenho reprodutivo e metabólitos sanguíneos de ovelhas Ile de France sob suplementação com sal orgânico ou sal comum durante a estação de monta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p.191- 197, 2010.

- SAHOO, B.; WALLI, T. K. Effect of feeding undegradable protein with energy on nutriente utilization, milk yield and milk composition of crossbred goats. **Small Ruminant Research**, v. 75, p. 36-42, 2008.
- SANTOS, F. A. P.; PEDROSO, A. M. Metabolismo da proteína. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) **Nutrição de ruminantes**. 2ed. Funep. Jaboticabal, 2011, p.616.
- SANTOS, V. L. F. et al. Rumen parameters of sheep fed cassava peel as a replacement for corn. **Small Ruminant Research**, v. 133, p. 88-92, 2015.
- SCHUTTE, J. E. et al. Total plasma creatinine: an accurate measure of the total striated muscle mass. **Journal of Applied Physiology**, v. 51, n. 3, p. 762 – 766, 1981.
- SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v. 70, p. 3562–3577, 1992.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2.ed., Ithaca: Cornell University, 1994, 476p.
- VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- VIEIRA, E. L. et al. Effects of feeding high levels of cactus (*Opuntia ficus-indica* Mill) cladodes on urinary output and electrolyte excretion in goats. **Livestock Science**, v. 114, p. 354–357, 2008.
- WADHWA, M.; BAKSHI, M. P. S. **Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as substrates for generation of other value-added products**. RAP Publication. 2013. <http://www.fao.org/3/a-i3273e.pdf> (Acesso em 20.08.17).
- WEISS, W. P. **Energy prediction equations for ruminant feeds**. In: Cornell Nutrition Conference Feed Manufactures, 61th Proceedings, Cornell University, Ithaca, p. 176–185, 1993.
- ZEOULA, L. M. et al. Solubilidade e degradabilidade ruminal do amido de diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, p. 905-912, 1999.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Com base nos resultados obtidos, podemos recomendar a utilização da dieta milho + ureia na terminação de ovinos, quando pretende-se obter taxa de ganho médio diário até 200 g/dia. Embora o milho apresente maior custo de aquisição, comparado as fontes energéticas alternativas, a sua associação com a ureia em substituição a utilização do farelo de soja já possibilita redução significativa do custo da ração. A utilização de dietas alternativas como milho + ureia, raspa de mandioca + ureia e palma forrageira + ureia na alimentação de ruminantes oferece a possibilidade de redução dos custos de produção, assim deve-se considerar a disponibilidade desses ingredientes, o custo de aquisição e o nível de produção desejado na escolha dos ingredientes para formulação das dietas.

A respeito da utilização da ureia, a substituição total da fonte de proteína verdadeira pelo nitrogênio não proteico (NNP) causa modificações na fermentação ruminal e na população de microrganismos do rúmen, o que pode ser relacionado com os efeitos negativos sobre o desempenho dos animais. Logo, pressupõe-se a necessidade de inclusão de maiores proporções de proteína verdadeira na dieta de ruminantes, quando da utilização da ureia.