

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NÍVEL DE RESTRIÇÃO DO CONSUMO E USO DE FITASE
EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS DE CORTE

Autora: Silvana Teixeira
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

MARINGÁ
Estado do Paraná
Agosto – 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NÍVEL DE RESTRIÇÃO DO CONSUMO E USO DE FITASE
EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS DE CORTE

Autora: Silvana Teixeira
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

“Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal”.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Agosto - 2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

T266n Teixeira, Silvana
Nível de restrição do consumo e uso de fitase em dietas alto grão para bovinos de corte/ Silvana Teixeira. -- Maringá, 2011.

112 f. , tabs., figs.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, 2011.

1. Ruminantes - Nutrição 2. Nutrição animal - Bovinos 3. Absorção de fósforo 4. Alimentação restrita 5. Digestibilidade de nutrientes 6. Dietas alto grão 7. Enzima para ruminantes I. Branco, Antonio Ferriani, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. III. Título

CDD. 21.ed. 636.2085

JLM000128

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NÍVEL DE RESTRIÇÃO DO CONSUMO E USO DE FITASE
EM DIETAS ALTO GRÃO PARA BOVINOS DE CORTE

Autora: Silvana Teixeira
Orientador: Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia– Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 29 de agosto de 2011

Prof. Dr. Gilberto Vilmar Kozloski

Prof. Dr. Elias Nunes Martins

Prof^a Dr^a Claudete Regina Alcalde

Prof^a Dr^a Gisele Fernanda Mouro

Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco
(Orientador (a))

“A sabedoria do pobre o faz andar de cabeça erguida, e lhe permite sentar-se entre os grandes. Não elogie um homem por sua beleza, nem deteste uma pessoa por aparência. A abelha é pequena entre os seres que voam, mas o que ela produz é o que há de mais doce”.

(Eclesiástico 11, 1-3)

A

Deus, pela força incondicional e pai amoroso, que com Espírito Santo nos guia sempre para o caminho da verdade, fortalecendo na fé a cada dia.

Aos meus pais,

Luiz Teixeira e Marinalva do Nascimento Teixeira, por serem as razões da minha vida, alicerce sem o qual não chegaria a lugar algum. Pelo amor incondicional e gratuito que sempre me deram e pela educação.

Ao meu noivo,

Paulo Levi de Oliveira Carvalho, pelo amor, amizade, companheirismo e incentivo durante todos estes anos.

Aos meus irmãos,

Amauri Teixeira, Leila Teixeira e Marcos Roberto Teixeira, em meio a tantas diferenças e dificuldades, me tornaram forte para vida e ensinaram muito.

Aos meus sobrinhos,

Marco Aurélio Teixeira Feitosa, Nivando Henrique Teixeira Feitosa, Luiz Eduardo Teixeira Lima, Ana Luiza Teixeira Lima e Marina Teixeira pelo amor incondicional e, por mostrar que tudo pode ser muito melhor.

Ao meu sobrinho neto,

Luiz Roberto Longo Teixeira, por ser mais um anjinho a alegrar nossas vidas.

A toda minha família, aos meus irmãos de coração, os quais chamo de amigos e a minha Igreja que fortalece a minha fé e me conduz na caminhada.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus força onipotente, por enviar Espírito Santo e me conduzir na caminhada, pelas provas passadas e superadas a cada dia;

Aos meus avós, José Ferreira do Nascimento (*in memoriam*), Euflazia Ferreira do Nascimento, Angelo Teixeira (*in memoriam*) e Ivanete Duarte Teixeira, por tudo que fizeram por mim e pelos meus pais, pelo amor incondicional que sempre nos transmitiram;

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá pelo acolhimento, ensinamento e oportunidades proporcionadas;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, de fundamental importância para a realização deste trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação Araucária pelo financiamento dos projetos;

Ao Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco pela orientação e aprendizado durante o mestrado e doutorado, pelo convívio durante todos esses anos, pela atenção, amizade e paciência;

Ao Prof. Dr. Ulysses Cecato, pela coorientação, ensinamentos, pela amizade e conselhos;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em especial a Alice Eiko Murakami, Carlos Eduardo Furtado, Elias Nunes Martins, Ivan Moreira e Claudete Regina Alcalde pelos ensinamentos repassados e espelho de conduta pessoal e profissional;

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Denilson dos Santos Vicentin e Rose Mary Pepinelli, por todo auxílio e amizade;

A coordenadora do Laboratório de Nutrição Animal, Prof. Dra. Lucia Maria Zeoula e aos funcionários Cleuza Volpato, Creuza Souza Azevedo, Hermógenes Augusto de

Camargo Neto e Roberto Carlos, pela colaboração na condução as análises laboratoriais e amizade;

Ao grande amigo e funcionário do setor Sr. Wilson Marsola, pela ajuda fundamental na condução dos experimentos, muito obrigada pela amizade, tempo de convívio e aprendizado;

Aos meus amigos irmãos de coração em especial a Cláudia Helena Ferreira Zago, Daniele Cristina da Silva Kazama e Ricardo Kazama, Fernanda Granzotto e Alexandre Leseur dos Santos, Jakeline Vieira Romero, Josiane Aparecida Volpato, Julio Cezar Barreto, Luciano Soares de Lima, Moyses Calixto Junior, Patricia Cristina do Couto Bumbieris e Valter Harry Bumbieris, Sandra Galbeiro, Wallacy Barbacena Rosa dos Santos e Rute Feiden Barbacena. Amigo fiel não tem preço, e seu valor é incalculável;

Aos demais amigos de infância, graduação e pós- graduação pela amizade conquistada: Claudio Fabrício da Cruz Roma, Franciane Barbieri Dias, Edma Ferraz, Fabiano Luis Simioni e Cristiane Spagnol, Hanna Sakamoto de Freitas, Iolanda Maria Sartori, Ivan da Graça Araújo, Josianny Limeira Figueira, Juliana Beatriz Toledo, Juliano Romàn, Leydi B. Tenório, Lina María Peñuela Sierra, Nissirlany Cardoso Leal, Marcela Matavelli, Michele Simili e Roberto Haryoshi Ito, muito obrigada por tudo, sou grata a Deus pelos amigos que tenho!

As meninas de casa em especial a Ana Lúcia Teodoro, que em pouco tempo me ajudou de forma imensurável e pela amizade e a Jaqueline Manzatti da Silva, pela amizade;

À Prof. Márcia, Erothides Galbeiro (Tia Thide), Pietra e Creuza Azevedo, pela amizade e apoio;

Ao pessoal grupo de pesquisa, em especial: Aline Castelini, Altair Diego Sofiati, Alysson de Almeida Mattos, Cláudia Helena Ferreira Zago, Fernanda Granzotto, Jenifer Sifuentes de Souza, Josimari Paschoaloto, Julio Cezar Barreto, Laiz Fiorilli de Matos, Milene Osmari, Romàn David Castañeda Serrano, Rodrigo Almeida, Tatiana Garcia Diaz pelo convívio, amizade e ajuda na condução dos experimentos e análises laboratoriais e aos demais Amanda Pesqueira, Bruna Marsiglio e Marilize Caldas pela ajuda análises laboratoriais;

Aos demais amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UEM.

OBRIGADA!

BIOGRAFIA

SILVANA TEIXEIRA, filha de Luiz Teixeira e Marinalva do Nascimento Teixeira, nasceu às 07h45min na cidade de Cruzeiro do Oeste, Estado do Paraná, na data de 14 de dezembro de 1981.

Cursou o ensino fundamental na Escola Estadual Viriato Bandeira e o ensino médio na Escola Estadual Padre Nunes, na cidade de Coxim/MS.

Em agosto de 2000, ingressou no curso de graduação em Zootecnia, pela Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade de Aquidauana/MS, concluindo o mesmo em Julho de 2005.

Em fevereiro de 2006, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, área específica Nutrição de Ruminantes, concluindo o mestrado com defesa de Dissertação em 25 de abril de 2008.

Em março de 2008, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, área específica Nutrição de Ruminantes, concluindo o doutorado com defesa de Tese em 29 de agosto de 2011.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	XI
RESUMO.....	XII
ABSTRACT.....	XIV
I - INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 PLANO NUTRICIONAL E A ABSORÇÃO DE NUTRIENTES.....	1
1.2 ADIÇÃO DE FITASE NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL.....	5
1.2.1 FÓSFORO NOS ALIMENTOS.....	5
1.2.2 CARACTERIZAÇÃO E USO DA FITASE NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL.....	9
II – OBJETIVO GERAL.....	19
III - EFEITO DO NÍVEL DE CONSUMO DE MATÉRIA SECA POR BOVINOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS ALTO GRÃO SOBRE A ABSORÇÃO APARENTE DE NUTRIENTES.....	20
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS.....	56
IV–ABSORÇÃO APARENTE DE FÓSFORO EM BOVINOS CONSUMINDO DIETAS ALTO GRÃO E ADIÇÃO DE FITASE.....	60
INTRODUÇÃO.....	62
MATERIAL E MÉTODOS.....	63
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
CONCLUSÕES.....	92
REFERÊNCIAS.....	93

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Composição percentual e química dos ingredientes e da ração total com base na matéria seca	25
TABELA 2. Consumo em g/dia, % do peso corporal (PC) e g/kg de peso metabólico ($\text{g/kg}^{0,75}$) de matéria seca e de nutrientes por bovinos de corte com níveis crescentes de matéria seca	33
TABELA 3. Fluxo omasal e fecal da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos totais, carboidratos não fibrosos, fósforo e cálcio.....	36
TABELA 4. Digestão ruminal, intestinal, total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta.....	39
TABELA 5. Digestão ruminal, intestinal, total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total do extrato etéreo e da fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína.....	41
TABELA 6. Digestão ruminal, intestinal e total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total dos carboidratos totais e carboidratos não-fibrosos e nutrientes digestíveis totais.....	44
TABELA 7. Desaparecimento ruminal, intestinal, total e absorção aparente ruminal, intestinal e total do fósforo e cálcio em bovinos alimentados com alto teor de concentrado.....	45
TABELA 8. Valores de pH e amônia (NH_3) e dos seus respectivos pontos críticos mensurados no líquido ruminal de bovinos de corte alimentados com dietas alto grão, de zero a 8 horas após a primeira alimentação da manhã	47

TABELA 9. Volume ruminal e parâmetros da cinética ruminal	51
TABELA 10. Parâmetros urinários e de eficiência de síntese de proteína microbiana..	52
TABELA 11. Concentrações séricas de ureia, nitrogênio ureico, fósforo inorgânico e cálcio de bovinos consumindo níveis crescentes de matéria seca	54
TABELA 12. Composição percentual e química dos nutrientes da ração experimentais com base na matéria seca	65
TABELA 13. Consumo de matéria seca e de nutrientes por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase .	73
TABELA 14. Fluxo omasal e fecal da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibrosos, fósforo e cálcio por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase	75
TABELA 15. Digestão ruminal, intestinal, total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta, por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase	77
TABELA 16. Digestão ruminal, intestinal, total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total do extrato etéreo, da fibra em detergente neutro e dos carboidratos não fibrosos por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase .	79
TABELA 17. Digestão ruminal, intestinal e total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total dos carboidratos totais e carboidratos não fibroso por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase e nutrientes digestíveis totais	81
TABELA 18. Desaparecimento ruminal, intestinal, total e absorção aparente ruminal, intestinal e total do fósforo e cálcio por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase.....	82
TABELA 19. Valores de pH e concentração de amônia (NH ₃) no fluído ruminal e dos seus respectivos pontos críticos estimados em bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase, de zero a 8 horas após a primeira alimentação	85
TABELA 20. Parâmetros da cinética ruminal de bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase.....	88

TABELA 21. Parâmetros da eficiência de síntese de proteína microbiana de bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase.....	90
TABELA 22. Concentrações de nitrogênio e ureia mensurados no plasma sanguíneo e fósforo e cálcio no soro sanguíneo de bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase.....	92

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Estrutura da forma totalmente protonada do ácido fítico (mioinositol 1,2,3,4,5,6-hexaquifosfato. Fonte: Adeola & Sands (2003), adaptado de Graf (1986).	6
FIGURA 2. Representação esquemática da hidrólise do substrato pela fitase histidina ácida e fitase β -hélice (fitase alcalina). Fonte: Adaptado de Singh et al. (2011)	11
FIGURA 3. Variação do pH e da amônia do líquido ruminal de bovinos alimentados com diferentes níveis de consumo de matéria seca, durante o período de zero a 8 horas após a alimentação.	49
FIGURA 4. Variação do pH e da amônia do líquido ruminal em bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase, de zero a 8 horas após a primeira alimentação	86

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá – UEM, durante o período de outubro de 2009 a março 2011. O experimento 1 foi conduzido para avaliar os efeitos dos diferentes níveis de consumo de matéria seca em dieta de confinamento (79% de NDT) sobre os parâmetros de fermentação ruminal, os parâmetros de cinética ruminal, a digestibilidade aparente parcial e total dos nutrientes, o desaparecimento pré-intestinal, intestinal e total do fósforo e do cálcio, eficiência de síntese microbiana no rúmen, e parâmetros séricos (ureia, nitrogênio ureico, fósforo inorgânico e cálcio). Foram utilizados cinco bovinos machos castrados, anelados, com 18 meses de idade, com peso corporal médio de 365 ± 48 kg, providos de cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5. Os animais foram alimentados com a mesma dieta, tiveram consumo restrito de matéria seca em relação ao peso corporal (PC), compondo os tratamentos: 1) 1,6%; 2) 1,7%; 3) 1,8%; 4) 1,9% e 5) 2,0%. A digestão total (g/dia) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não fibrosos (CNF), fósforo (P) e cálcio (Ca), aumentaram linearmente em resposta aos níveis de consumo de matéria seca. No entanto, os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca e dos demais nutrientes, desaparecimento e absorção aparente de fósforo e de cálcio não foram influenciados pelos diferentes níveis de consumo. Os valores de pH e as concentrações de amônia, assim como seus pontos críticos, não foram influenciados pelos diferentes níveis de consumo. Para os parâmetros de cinética ruminal, resposta linear foi obtida para taxa de fluxo (L/h) aos níveis de consumo de matéria seca. O consumo restrito de matéria seca não influenciou sobre a eficiência de síntese de proteína microbiana e os parâmetros séricos, como uréia,

nitrogênio ureico fósforo inorgânico e cálcio. O consumo restrito não influencia a digestibilidade dos nutrientes e os demais parâmetros avaliados. O experimento 2 foi conduzido para avaliar a eficiência de utilização da enzima fitase Natuphos® em dietas alto grão para bovinos de corte sobre os parâmetros de fermentação, parâmetros de cinética ruminal, a digestibilidade aparente parcial e total dos nutrientes, o desaparecimento pré-intestinal, intestinal e total do fósforo e do cálcio, eficiência de síntese microbiana no rúmen, e parâmetros séricos (ureia, nitrogênio ureico, fósforo inorgânico e cálcio). Foram utilizados cinco bovinos machos castrados, anelados, com 18 meses de idade, com peso corporal (PC) médio de 318 ± 45 kg, providos de cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5. Todos os animais foram alimentados com a mesma dieta, fornecida em 2,4% do PC, diferindo nas concentrações de fitase (unidades de fitase - FTU), como segue: 1) Controle – Sem fitase (0 FTU); 2) 300 FTU/kg ração; 3) 600 FTU/kg ração; 4) 900 FTU/kg ração e 5) 1200 FTU/kg ração, com razão volumoso:concentrado de 20:80. As diferentes concentrações de fitase não influenciaram o consumo de MS e dos demais nutrientes, exceto para o consumo de NDT que respondeu de forma quadrática. A digestão total (DT) da MS, MO e dos CNF responderam tiveram efeito quadrático em resposta as crescentes concentrações de fitase. O desaparecimento ruminal de cálcio foi linear a adição de fitase. Os demais valores de digestão e os coeficientes de digestibilidade aparente parcial e total da MS e dos nutrientes, o desaparecimento e absorção aparente do fósforo e do cálcio não apresentaram influências. O NDT observado apresentou efeito quadrático, com ponto de máximo estimado para 600 FTU/kg de ração. Os valores de pH e as concentrações de amônia, assim como seus pontos críticos, não foram influenciados. O volume ruminal (% do PC), a taxa de passagem da fase líquida e a taxa de reciclagem tiveram resposta cúbica para as diferentes concentrações de fitase. A adição de fitase na ração não influencia a eficiência de síntese de proteína microbiana e os parâmetros séricos. Para os animais alimentados com dietas alto grão (80%) e silagem de milho (20%) a adição de fitase não é eficiente para melhorar a digestibilidade dos nutrientes, parâmetros de fermentação e cinética ruminal, absorção aparente de fósforo e cálcio, eficiência de síntese de proteína microbiana.

Palavras-chave: absorção de fósforo, alimentação restrita, digestibilidade de nutrientes, enzima

ABSTRACT

Two experiments were carried out at the Fazenda Experimental de Iguatemi, of the Universidade Estadual de Maringá, from October 2009 to March 2011. Experiment 1 was conducted to evaluate effects of different intake levels of feedlot diets (79% of TDN) on rumen fermentation parameters, rumen kinetic parameters, partial and total nutrients digestibility, rumen microbial synthesis efficiency, and serum parameters (urea, ureic nitrogen, inorganic phosphorus and calcium). Five castrated zebu steers (averaging 18 months of age and 365 ± 48 kg of BW) fitted with ruminal cannulas were used in a 5×5 Latin-square design. Animals were fed the same diet with intake restriction based on body weight, according to the treatments: 1) 1.6%; 2) 1.7%; 3) 1.8%; 4) 1.9%; and 5) 2.0%. Total digestion (g/d) of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber (NDF), total carbohydrates (TC), non-fiber carbohydrates (NFC), phosphorus (P), and calcium (Ca) were linear increased by dry matter intake levels. However, digestibility coefficients of dry matter and nutrients, phosphorus and calcium disappearance and absorption were not affected by intake levels. Values of pH and ammonia, as well as critic points were not affected by different levels of intake. For rumen kinetic parameters, linear effect was observed for flow rate (L/h). The intake of dry matter restricted did not influence the rumen microbial synthesis efficiency and serum parameters, such as urea, urea nitrogen, inorganic phosphorus and calcium. Experiment 2 was conducted to evaluate the effects of efficient utilization of phytase (Natuphos®) in beef cattle fed high grain diets on rumen fermentation parameters, rumen kinetic parameters; partial and total nutrients digestibility; preintestinal, intestinal and total disappearance of phosphorus and calcium; ; rumen microbial synthesis efficiency; and serum parameters (urea, urea nitrogen, inorganic phosphorus and calcium). Five castrated zebu steers (averaging 18 months of age and 318 ± 45 kg of BW) fitted with ruminal cannulas were used in a 5×5 Latin-square design. Animals were fed the same diet (based on 2.4% of BW) with a forage:concentrate of 20:80. Treatments were composed of different phytase concentrations (phytase units – PU) as follows: 1) control (without phytase – 0 PU); 2) 300 PU/kg of diet; 3) 600 PU/kg of diet; 4) 900 PU/kg of diet; and 5) 1200 PU/kg of diet. Phytase concentrations did not affect the intakes of DM and nutrients, except TDN intake which showed quadratic effect. Total digestion of DM, OM and NFC had quadratic effect. The use of phytase caused a linear effect on calcium ruminal disappearance. The other digestion values, digestibility coefficients, disappearance and

absorption of phosphorus and calcium were not altered. The observed TDN showed quadratic effect, with maximum point estimated of 600 PU/kg of diet. Values of pH and ammonia, as well as critic points were not affected. Ruminant volume (% BW), liquid flow rate and recycling rate had cubic effect. Using phytase did not affect microbial protein synthesis and serum parameters. For animals fed high grain (80%) diets and corn silage the addition of phytase is not enough to improve nutrient digestibility, ruminal fermentation and kinetic parameters, phosphorus and calcium apparent absorption and microbial protein synthesis efficiency.

Key words: enzyme, nutrient digestibility, phosphorus absorption, restricted feeding

I - INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Plano nutricional e a absorção de nutrientes

O manejo alimentar em relação ao consumo de alimentos quer seja por restrição ou alimentação para uma específica taxa de ganho podem ser vantajosas para confinadores. Além disso, a crescente pressão que os confinadores têm sofrido para atender aos padrões ambientais é cada vez mais rígida e abre portas para maior utilização de técnicas de gestão alimentar. Essa mudança de visão é importante para alteração na excreção de nutrientes a partir do sistema de alimentação adotado pelo confinamento (Galyean, 1999). As abordagens dessa gestão são de forma simplificada, dividida em alimentação restrita e alimentação programada.

Galyean (1999) define que a alimentação limitada se refere a prática de restringir o consumo de algum componente da dieta para um nível inferior ao consumo voluntário baseado no conhecimento ou na predição do comportamento animal. O mesmo autor destaca que a alimentação programada é mais facilmente definida e tem menor variação prática. Em essência a alimentação programada é um método no qual as equações de energia líquida são usadas para calcular as quantidades de alimentos necessário para as exigências de manutenção e para a taxa desejada de ganho.

Estudos mostram que o uso de dietas ricas em concentrado com alimentação restrita tem se tornado cada vez mais comum para animais em crescimento. O consumo programado de alimento precisa coincidir com as necessidades de energia e exige uma estimativa da densidade energética dos alimentos. Alterações na digestibilidade em razão do consumo podem ter substancial efeito nas estimativas da densidade energética dos alimentos. Os efeitos da redução no consumo de dietas com alta forragem sob a digestibilidade são bem estabelecidos (Murphy et al., 1994).

A fase de crescimento em confinamento, antes da terminação é uma ferramenta de produção usada por confinadores para obtenção de carcaças mais pesadas e rendimentos aceitáveis. Tradicionalmente, as dietas de crescimento são compostas por alta forragem.

A intenção é a autorrestrrição no consumo de energia e, conseqüentemente, ganho de peso, através da limitação física do aparelho digestório. Quando os custos são relativamente altos com forragem como fonte de energia, quando comparada aos grãos, contribuem para o aumento e adoção da alimentação restrita de alta energia para novilhos em crescimento confinados (Zinn et al.,1995).

Clark et al. (2007) relatam que o desempenho de bovinos em confinamento será economicamente mais favorável com consumo voluntário de matéria seca, no entanto, a máxima eficiência de produção pode ocorrer com alguns níveis de matéria seca inferiores ao consumo voluntário. Benefícios associados com restrição programada do consumo de matéria seca podem melhorar a digestibilidade e a eficiência alimentar, reduzir os custos e, conseqüentemente, aumentar o ganho médio diário. Segundo Tyrrell & Moe (1975) em pesquisas com dietas à base de forragem apresentaram melhoria na digestibilidade quando há restrição no consumo.

De acordo com Colucci et al.(1982), quando o consumo de matéria seca diminui a digestibilidade aumenta. Estudos afirmam que a restrição alimentar programada para bovinos confinados faz com a eficiência alimentar melhore e os custos sejam reduzidos (Schmidt et al., 2005). Segundo Clark et al. (2007), as mudanças na digestibilidade aparente são acompanhadas pelas mudanças na ingestão de energia metabolizável ou na eficiência pelo animal.

Galyean et al. (1979), avaliando o desempenho de bovinos mestiços (Hereford vs Pardo Suíço, peso corporal médio inicial de 285 kg) com consumo restrito e dietas alto grão com 84% de milho, recebendo 1,0; 1,33; 1,67 e 2,0 vezes a exigência de manutenção, verificaram que as digestibilidade da matéria seca e da matéria orgânica foram reduzidas a medida que os níveis de consumo aumentaram, pelo aumento na taxa de passagem.. A digestibilidade total do amido foi similar ao da matéria seca e matéria orgânica. Neste contexto, os autores concluem que o nível de consumo influencia a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e amido em dietas com alto concentrado.

Na mesma linha de pesquisa Zinn & Owens (1983) avaliaram o consumo restrito, por novilhos Angus (212 kg), alimentados com dietas alto grão, à base de milho (63%) e quatro níveis de consumo de matéria seca 1,2; 1,5; 1,8 e 2,1% em relação ao peso corporal dos animais. A digestibilidade ruminal da matéria orgânica, do amido e da fibra em detergente ácido, foram reduzidas linearmente com o aumento no consumo de

matéria seca. A redução na digestibilidade da matéria orgânica foi atribuída ao menor tempo de retenção no rúmen e no trato total, e a quantidade de matéria orgânica prontamente fermentável presente no rúmen/unidade de tempo também aumentou com o consumo.

Segundo Murphy & Loerch (1994), em estudos com animais mestiços (Continental vs Inglesa, peso corporal médio 280 kg), a prática da alimentação programada evita a redução na eficiência alimentar e a melhoria nesta variável resulta em aumento na digestibilidade, redução nos gastos de energia de manutenção e alterações na composição da carcaça final e composição do ganho. O uso da estratégia de alimentação restrita tem potencial para melhorar a composição da carcaça (redução no excesso de produção de gordura) sem aumentar os custos da alimentação ou prejudicar a eficiência na produção animal.

Em outros estudos Loerch & Fluharty (1998), avaliaram consumo programado de bovinos mestiços (raça Continental vs Inglesa, peso inicial médio de 273 kg) para ganhos de acordo com NRC (1984) de 0,91 kg/dia, 1,16 kg/dia, 1,36 kg/dia e consumo voluntário. No entanto, as taxas de ganho dos animais foram superiores aos previstos em 113; 108 e 103%, respectivamente, demonstrando que as equações de predição não foram precisas na previsão do ganho de peso. A eficiência alimentar foi superior para o consumo voluntário, com diferença entre 5,2 a 12,2% do consumo restrito. Os animais que consumiam dieta de forma restrita tiveram menor eficiência alimentar e quando estes animais receberam a dieta *ad libitum*, houve um ganho compensatório para a eficiência alimentar e ganho médio diário, de forma que, mesmo com consumo voluntário após o período de restrição estes animais não expressaram todo o potencial e os que tiveram seus ganhos previstos para 0,91 kg/dia, ficaram 21 dias a mais em confinamento para atingir peso de abate.

Choat et al. (2002) trabalhando com animais cruzados (Angus vs Hereford, com peso inicial médio de 418 kg), comparando consumo voluntário (2,0 % do PC) com níveis crescentes de concentrado (65; 75; 85 e 92,5% de concentrado) e restrito (1,6 % do PC) com consumo de concentrado de 92,5 %, observaram que a digestibilidade total da matéria orgânica foi maior para os animais com consumo restrito. No mesmo estudo, foi comprovado que o ganho médio diário final e a eficiência alimentar foram melhores para os animais com consumo restrito, quando comparado ao voluntário.

Em contraste, Montgomery et al. (2004) em pesquisas com bovinos Jersey com peso inicial médio de 534 kg, avaliando substituição do milho floculado por grão de milho úmido, com dois níveis de ingestão, consumo voluntário (2,1 a 2,4% do peso corporal) e restrito (1,6% do peso corporal), verificaram que a digestibilidade da matéria orgânica, da fibra em detergente neutro e do amido foram inferiores quando os animais foram alimentados de forma restrita.

Schmidt et al. (2005), em pesquisas com bovinos Angus com peso inicial médio de 327 kg, com consumo restrito em 80% e 100 % do consumo voluntário, e manutenção dos níveis de energia e proteína metabolizável observaram que a restrição de 80% proporcionou maior ganho médio diário, melhor eficiência de crescimento e as características de carcaça foram similares quando comparadas com os animais alimentados para o consumo voluntário.

Em trabalhos recentes, Clark et al. (2007) avaliaram os efeitos do consumo de matéria seca por bovinos mestiços com peso médio inicial de 450 kg, alimentados com dieta com alta porcentagem de concentrado, com para consumo voluntário (2,55 % do peso corporal), 90% do consumo voluntário (2,38 % do peso corporal) e 80% do consumo voluntário (2,02% do peso corporal). Os autores verificaram que a digestibilidade da matéria seca foi superior para os animais que consumiram a dieta com 80% do consumo voluntário, e aqueles que tiveram consumo voluntário e 90% do consumo voluntário, não diferiram entre si.

No mesmo trabalho, Clark et al. (2007) quando avaliaram a retenção e fósforo pelos animais com consumo voluntário e restrito em 80 e 90% do consumo voluntário não apresentaram diferenças entre os tratamentos, sugerindo que o consumo restrito de alimento seria eficaz na retenção de fósforo pelos animais, quando comparados aovoluntário.

Soto-Navarro et al. (2000), em pesquisas com animais mestiços (Britânico vs Continental, peso médio inicial de 344 kg) alimentados com uma dieta alto grão (90%) com consumo restrito em 90% do consumo voluntário, e alimentados uma vez ou duas vezes ao dia, observaram que a alimentação duas vezes ao dia resultou em ambiente ruminal mais estável Na maioria das vezes, a restrição programada do consumo tem sido prejudicial para o desempenho e acabamento de bovinos. Quando o consumo de matéria seca e energia são restritos concomitantemente, o ganho médio diário e o peso da carcaça quente são reduzidos e conseqüentemente a qualidade da carcaça diminui.

No entanto, se houver restrição no consumo de matéria seca, mas os níveis de energia e proteína forem mantidos em relação ao consumo voluntário ocorrerá melhoria na eficiência de crescimento, aumento no ganho médio diário total e as características de carcaça não serão influenciados (Clark et al., 2007).

A literatura é conflitante quanto aos efeitos causados pelo consumo restrito quando comparado ao voluntário, uma vez que os resultados obtidos por ambos mostram efeitos positivos, uma vez que a digestibilidade para animais com consumo restrito não é afetada, mas, a maior produtividade animal é obtida com consumo voluntário. Diante do exposto surge a necessidade por maiores investigações quanto aos efeitos causados por estes diferentes tipos de manejo alimentar.

1.2 Adição de fitase na alimentação animal

1.2.1 Fósforo nos alimentos

A concentração de fósforo nos alimentos é muito variável. Nos cereais é encontrado entre 2,7 - 4,3 g de fósforo/kg de MS. Nos concentrados proteicos correspondem entre 5 a 12 g/kg de MS e para as forrageiras tropicais, temperadas, gramíneas e leguminosas foram obtidos valores de 2,3; 3,5; 2,7 e 3,2 g/kg de matéria seca (Underwood & Suttle, 1999), estas diferenças nas concentrações de fósforo são atribuídas ao metabolismo do mineral na planta, as partes da planta, a fertilidade do solo e as condições climáticas.

De acordo com Hill et al. (2008) nas plantas e nos grãos o fósforo é encontrado na forma orgânica, principalmente como fitato, mioinositol hexaquifosfato ou IP6 (Harland & Morris, 1995). Especificamente são utilizadas três terminologias para descrever o substrato da enzima fitase, são, ácido fítico, fitato e fitina. O ácido fítico é a forma livre do mioinositol hexaquifosfato (IP6). O mais comumente usado é o fitato, que se refere ao sal misto de ácido fítico (Figura 1), é a forma aniônica do IP6, que em seu estado nativo pode se complexar a proteínas e cátions mono ou divalentes, e é consumido por seres humanos e animais principalmente nos cereais e leguminosas ou de alimentos derivados delas (Harland & Morris, 1995).

O termo fitina especificamente aos complexos de IP6 com magnésio, potássio e cálcio pode, às vezes, estar ligado a proteínas e amido (Angel et al.; 2002, Selle & Ravindran, 2007).

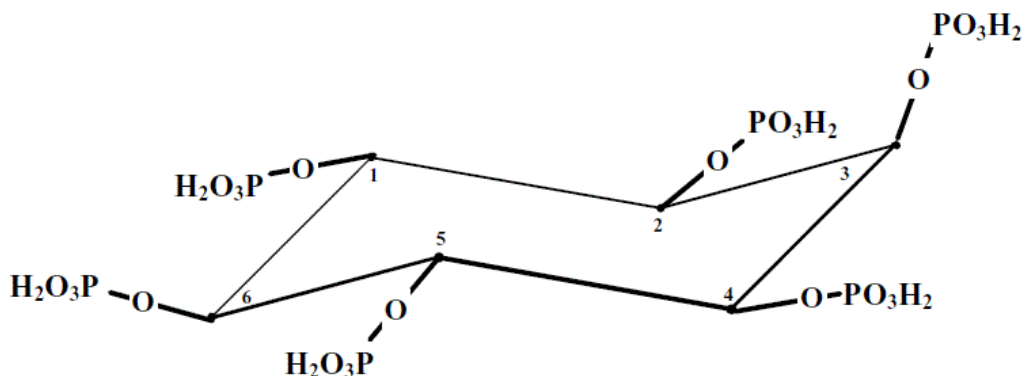


Figura 1. Estrutura da forma totalmente protonada do ácido fítico (mioinositol 1,2,3,4,5,6-hexaquifosfato. Fonte: Adeola & Sands (2003), adaptado de Graf (1986).

Bravo et al. (2003a) relatam que o fósforo dietético é fornecido parcialmente na forma inorgânica e a partir de forrageiras e suplementos minerais. A parte orgânica inclui o fósforo fítico contido nos vegetais, como por exemplo, nos grãos e subprodutos, que contém entre 50 a 70% de fósforo na forma fítica, 20-30% como fosfolipídeos, fosfoproteínas e ácidos nucleicos, e 8 a 12% como inorgânicos.

Adeola & Sands (2003) relatam que a fitina constitui entre 0,7 a 2% da maioria dos grãos de cereais e oleaginosas, e serve como forma de estocagem de fósforo, representando 50 a 80% do fósforo total, ou até maior em variedades selecionadas. A fitina concentrada principalmente no farelo (camada de aleurona, testa e pericarpo) de grãos de cereais. No trigo e arroz, a maioria da fitina é encontrada em outras camadas, como aleurona e pericarpo, e com o endosperma quase desprovido de fitina e para o arroz cerca de 80% da fitina é concentrada no farelo. No milho, cerca de 90% da fitina é encontrada no endosperma e concentrada no gérmen.

Harland & Morris (1995) descrevem que pesquisadores obtiveram inibição na atividade da amilase, quando foi adicionado fitato, pelos íons cálcio complexante. Yoon et al. (1983), avaliando o efeito da digestibilidade do amido, observaram que o ácido fítico pode afetar a digestibilidade do amido, seja por meio da interação com a proteína e/ou aos minerais salivares, os quais o cálcio tem efeito conhecido para catalisar a atividade enzimática.

Em estudos mais antigos, Ellis & Tillman (1961), avaliando o fósforo fítico no farelo de trigo, observaram que a disponibilidade verdadeira do fósforo foi de 25% em

ovinos. A baixa disponibilidade indica a ineficiente utilização do fitato, sugerindo que grande quantidade de fitato presente no farelo de trigo ultrapassou o rúmen.

Clark et al. (1986) obtiveram absorção aparente do fósforo fítico de 98 e 98,1% para vacas com quatro e 10 semanas de lactação, respectivamente, com razão volumoso: concentrado de 50:50. O consumo de fósforo fítico foi oriundo do concentrado, uma vez que o fósforo fítico na silagem apresentou valores insignificantes após a ensilagem. A silagem total continha 0,25% de fósforo total e de fósforo fítico 0,0012%, sendo que na planta fresca de milho, a concentração de fósforo fítico foi de 13%. É provável que os microrganismos presentes na fermentação da silagem, sintetizam fitase ou outras enzimas que clivam o fitato convertendo-o em fósforo inorgânico na silagem de milho.

Bravo et al. (2000) obtiveram que a liberação de fósforo no rúmen é diferente entre alimentos, em estudos avaliando a liberação e concentração de fósforo em cereais e farelos. Os autores relatam que a exigências de fósforo pelos microrganismos ruminais são de extrema importância, pois, a rápida diminuição de fósforo ruminal prejudica a utilização da dieta e da produção animal. Para que o uso do mineral fósforo seja maximizado deve ser fornecido aos microrganismos com maior precisão em termos de quantidade e qualidade. Em dietas ricas em concentrado a possibilidade da deficiência de fósforo no rúmen deve ser estudada quando os animais são tratados com farelos submetidos a tratamento com formaldeído que podem reduzir a liberação do alimento no rúmen.

O NRC (2001) propôs um sistema em que os grupos de alimentos são considerados contendo dois valores de disponibilidade de fósforo 0,64 em forragens e 0,70 em todos os alimentos concentrados, incluindo farelos de oleaginosas. Sendo que o NRC (2000) gado de corte recomendava um coeficiente de absorção de 0,68 para todos os alimentos. Há poucos dados experimentais existentes sobre disponibilidade de fósforo de oleaginosas, apesar de fornecer uma grande quantidade de fósforo na dieta (Bravo et al., 2003b).

A liberação de fósforo além de ser amplamente diferente entre os alimentos é também dependente da área de concentração do elemento. Exemplo disso é o trigo, em que o fósforo é concentrado principalmente envolto na parte periférica sob a forma fítica. Desta forma caso seja removido o gérmen do trigo, isto resulta em subprodutos

com alta concentração de fósforo fítico que é rapidamente liberado pela atividade da fitase pelos microrganismos ruminais (Bravo et al., 2000).

No entanto, para o milho quando se extrai o gérmen, o fósforo é extraído, uma vez que o fósforo no milho é concentrado no gérmen. Assim os subprodutos do milho possuem baixos teores de fósforo sendo difícil a liberação, porque pode estar integrado a parte estrutural da parede celular região periférica do grão e exigir prévia degradação da matéria seca.

No rúmen, a liberação do fósforo é alta para alimentos como milho, farelo de soja e de trigo, com liberação de fósforo de 88,8% para grão de milho, 85,3% para o farelo de soja e de 84,7% para o farelo de trigo (Bravo et al., 2000). Na mesma linha de pesquisa Mjoun et al. (2008) avaliando a liberação de fósforo do milho e seus coprodutos comparados com diferentes alimentos da soja, os autores obtiveram que, os grãos de destilaria, gérmen de milho, produtos da soja tem alta degradabilidade ruminal de fósforo (>88,0%).

Morse et al. (1992) avaliando o fósforo fítico de alimentos fornecidos a vacas leiteiras, obtiveram que grãos secos de destilaria possuem uma concentração menor de fitato (32,0%) do que outros concentrados (55%). Nas avaliações *in vitro* os autores obtiveram concentrações de fitato em relação ao fósforo total de 63,8; 68,6; 78,2 e 80,7% para o grão de milho, farelo de soja, farelo de trigo e farelo de arroz, respectivamente. Para os mesmos alimentos quando avaliado a concentração de fósforo no fitato os autores obtiveram concentrações de 66; 58; 74 e 76%, respectivamente. Foi obtidos valores de disponibilidade variou de 94 a 98%, disponibilizando este fósforo a absorção no intestino delgado.

Em outros estudos Park et al. (2002) observaram que 35% do fósforo na forma de inositol passou para o abomaso de ovinos, confirmando os dados apresentados por Park et al. (1999), os quais obtiveram 32% do fitato que não foi degradado no rúmen.

Em dietas cujo teor de concentrado é alto, os teores de fósforo fítico são correspondentes, tornando-se necessário avaliar a digestibilidade do fitato pelos animais alimentados com dietas à base destes cereais. O fitato é hidrolisado pela fitase produzida pelos microrganismos ruminais, no entanto, a eficiência da enzima pode ser comprometida por fatores como, tratamento dos alimentos, presença de cátions mono ou divalentes, pH e quantidade de fósforo fítico na dieta (Dias et al., 2006).

Nos mesmos estudos, Dias et al. (2006) quando compararam a absorção aparente do fitato com fósforo não fítico dietético, obtiveram maior absorção aparente para o fitato, uma vez que pode ser hidrolisado no intestino grosso, superestimando a absorção do fósforo fítico, e o fósforo fítico hidrolisado é medido como P inorgânico nas fezes. Deve-se ressaltar que o fitato degradado no intestino grosso não tem importância nutricional para os ruminantes, uma vez que a absorção ocorre no intestino delgado.

Quando o desaparecimento do fósforo fítico é baixo em concentrados Morse et al. (1992) atribuem o fato em partes pelo alto conteúdo proteico e mudanças nos produtos químicos durante o processamento.

Quando se trabalha com dietas ricas em concentrado, faz-se necessário a solubilização do fósforo no rúmen, visto que a reciclagem do elemento via saliva é reduzida pela dieta ter menor concentração de fibra. No entanto, em dietas ricas em grãos a atividade da fitase pode ser saturada pelos altos níveis de fósforo fítico.

1.2.2 Caracterização e uso da fitase na alimentação animal

A fitase foi descoberta em 1907 por Suzuki, Yoshimura e Takaishi na Universidade Imperial de Tóquio (Singh et al., 2011). Em 1968, Nelson et al. reportaram que em aves o fósforo fítico da dieta seria utilizado a partir da hidrólise da fitase (Nelson et al., 1976). Em experimentos com suínos foi utilizada após 22 anos por Jongbloend & Kemme (1990). Em 1991 o estudo viu sua primeira produção comercial na Holanda por Gist-Brocades sob a marca “Nathuphos”. As indústrias de ração na Holanda foram as primeiras a usar fitase (Stahlman, 2009).

As recomendações foram para uso generalizado, sendo que no final de 1995 foi aprovada pela Associação de Desenvolvimento de Alimentos (FDA). Em 2001, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, concluiu que a fitase aumentaria os custos em 1%, no entanto a redução na excreção de fósforo seria de 40% (Stahlman et al., 2008).

De acordo com Pereira (2010), não há uma padronização na unidade para fitase, e esta unidade de medida dependerá de fatores como concentração do substrato utilizado (fitato de sódio), pH e temperatura. Desta forma, para a fitase oriunda de *Aspergillus Níger*, introduzida em 1991, definiu-se como unidade de fitase (FTU), a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μmol de ortofosfato inorgânico/minuto de 0,0051

mol/L de fitato de sódio, com pH 5,5 e temperatura de 37°C (Zyla et al., 1995; Engelen et al. (1994), citado por Pereira 2010).

A hidrólise dos produtos de inositol, por exemplo, inositol, penta, tetrafosfato, e do inositol menos fosforilado (IP3, IP2) pode surgir através da ação da fitase endógena, como no farelo de trigo, centeio, triticale, cevada (Harland & Morris, 1995; Pereira, 2010) ou de fitases ou atividade fosforilases elaborados pelas fontes microbianas ou fúngicas. (Harland & Morris, 1995). Alguns alimentos tais como milho, aveia, sorgo e oleaginosas apresentam baixa ou nenhuma atividade enzimática. As formas bi e trifosfato do inositol, bem como IP4, IP5 E IP6 são reconhecidos como componentes de sinalização celular e sistemas de transferência de fosfato, possivelmente presente em todos os tecidos animais e vegetais.

Steiner et al. (2007) relatam que o fitato é um agente quelante de cátions positivamente carregados (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Zn^{+2} e Fe^{+2}) que se complexa também com carboidratos, proteínas e aminoácidos (Applegate & Angel, 2004; Sands et al., 2009). Sobre condições intestinais os cátions têm absorção reduzida para suínos e aves. Entretanto, a fitase proveniente de microrganismos e de tecidos de plantas melhora a disponibilidade de fósforo da planta e minerais quelatados (Steiner et al., 2007).

De acordo com Sands et al. (2009) quando aminoácidos e proteínas são complexados com fitina podem ser menos acessíveis a proteólise enzimática durante o trânsito intestinal; e complexos ternários da fitina, cátions e proteínas formadas durante a passagem intestinal poderiam potencialmente enfraquecer as atividades das proteases. Assim, a formação do complexo fitina-proteína em alimentos de origem vegetal plantas e alimentos podem reduzir potencialmente a utilização da proteína da dieta. Então, sugere-se que a indução da fitase microbiana aumenta a disponibilidade do fósforo fítico e melhora a utilização da proteína.

A fitase (mio-inositol hexaqui-fosfato fosfohidrolase), pertence à subfamília das enzimas fosfatases histidina ácida de alto peso molecular, que hidrolisam o fitato a inositol e fosfato inorgânico (Wyss et al., 1999; Ullah & Sethumadhavan, 2003). Estudos atuais dividem a fitase em duas classes baseados no pH para a atividade: são elas as fitases ácidas e as fitases alcalinas (Figura 2). A fitase ácida tem sido foco atual, pela sua aplicabilidade na alimentação animal e maior especificidade de substrato se comparada as fitases alcalinas (Singh et al., 2011).

As enzimas são classificadas em duas categorias, de acordo com o local inicial de hidrólise da molécula de fitato: 3 mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase (3-fitase) e 6-mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase (6-fitase ou 6-fosfohidrolase). De acordo com Shingh et al. (2011) a 3-fitase é reportada principalmente por microrganismos e a 6-fitase por plantas.

A enzima que atuará na desfosforilação completa do ácido fítico é a 6-fitase, sendo que 3-fitase não hidrolisa o fosfato a monoéster (Pereira, 2010; Ullah & Sethumadhavan, 2003). De acordo com Wyss et al. (1999) o mecanismo de reação da fitase ocorre em duas etapas as quais incluem uma ligação covalente com a fosfohistidina e uma reação intermediária obrigatória.

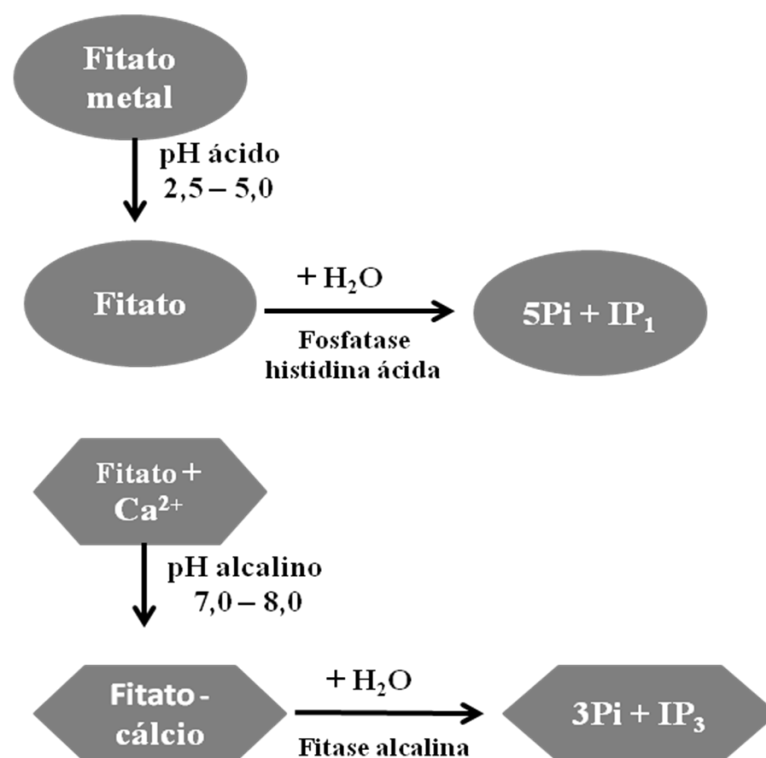


Figura 2. Representação esquemática da hidrólise do substrato pela fitase histidina ácida e fitase β -hélice (fitase alcalina). Fonte: Adaptado de Singh et al. (2011)

As fitases são encontradas naturalmente em plantas e microrganismos (Wyss et al., 1999) e de acordo com Hurley et al. (2002) e Singh et al. (2011) a fitase é sintetizada por fungos, leveduras e bactérias, animais não sintetizam fitase. Elas catalisam a hidrólise de fosfato de monoéster do ácido fítico (mio-inositol hexakifosfato), o que resulta na formação gradual do mioinositol pentaquis, tetraquis-, tris-, bis-, e monofosfato assim como na liberação do fosfato inorgânico (Wyss et al., 1999).

Wyss et al. (1999), obtiveram alto grau de homologia entre os aminoácidos das fitases, estas enzimas apresentaram substanciais diferenças nas propriedades catalíticas. Com base na especificidade de substrato, duas classes de fitase podem ser descritas, fitases com ampla especificidade de substrato (fitases *A. fumigatus*, *E. nidulans* e *M. thermophila*) e fitases muito específicas para ácido fítico (fitases *A. niger*, *A. terreus* 9A1, *A. terreus* CBS e *E. coli*). De acordo com Lei & Porres (2003), com a exposição a temperaturas elevadas, as fitases podem perder suas atividades enzimática por serem sensíveis.

No mesmo estudo, quando o excesso de fitase fúngica ou *E. coli* foi usada, o produto final da degradação do ácido fítico foi sempre o mesmo, mioinositol 2-monofosfato. Isto demonstra que todas as fitases apresentaram estereoespecificidade e uma forte preferência por grupos fosfato equatorial, sendo incapaz de clivar grupo fosfato axial. No entanto, pelo fato dos produtos finais serem idênticos, não significa que as vias de degradação do ácido fítico sejam idênticas para todas as fitases.

Hu et al. (1996) mostram que a fitase também foi encontrada no intestino de galinhas, coelhos, ratos, bezerros e suínos. A mesma atividade enzimática foi detectada em intestino de humanos, e quando comparada a atividade do intestino delgado o jejuno teve uma maior atividade e, a atividade enzimática do duodeno foi superior ao íleo. A hidrólise do fitato é importante por ocorrer a remoção dos grupos fosfatos do inositol, assim os grupos fosfatados têm uma redução na capacidade para ligação com outros metais.

Animais não ruminantes não sintetizam fitase, desta forma fitases microbianas são adicionadas nas rações para aumentar o fósforo disponível na dieta, no entanto esta disponibilidade aumenta apenas para 60-65%, quando os alimentos são secos e sem adição de fósforo inorgânico (Blaabjerg & Poulsen, 2010). Para ruminantes, o rúmen representa uma fonte altamente ativa de fitase, atribuída aos microrganismos ruminais (Nakashima et al., 2007). Algumas estratégias de suplementação com fitase na ração são adotadas para que haja um melhor aproveitamento do fósforo orgânico, tornando-o disponível e reduzindo custos com suplementação de fontes inorgânicas.

Poulsen et al. (2007) comparando a eficiência de duas fitases microbianas (derivadas de *Aspergillus niger* e *Peniophora lycii*), quando adicionada a uma dieta à base de trigo-cevada-soja-colza com diferentes níveis de inclusão da enzima obtiveram aumento na disponibilidade do fósforo quando suplementada com fitase, na dieta de

suínos. Os autores concluem que, a fitase oriunda de *Peniophora lycii*, foi equivalente a *Apergillus niger*, quando dosada 1,5 vezes a mais na dieta de suínos.

Bravo et al. (2002) não observaram efeito na liberação de fósforo pela dieta suplementada com fitase, quando adicionada em dieta com alta forragem. Entretanto, observaram que a suplementação com 2000 FTU/kg fitase fúngica quando adicionada a ração com alto concentrado (70% de milho), a fitase melhorou a solubilização de fósforo ruminal do farelo de soja e canola tratados com formaldeído.

Em outros estudos com adição de fitase fúngica na ração, houve aumento na disponibilidade do fósforo do farelo de soja tratado com formaldeído e do farelo de girassol tratado com formaldeído e o mesmo aumento não foi observado para o farelo de canola também tratado com formaldeído. A enzima influenciou apenas a disponibilidade do fósforo, de forma a não alterar a digestibilidade da matéria seca (Bravo et al., 2003b).

O mesmo autor relata que a ação da fitase pode ocorrer no abomaso. A enzima pode ter atingido rapidamente o abomaso, em que as condições de pH tenham sido favoráveis para atividade, ação que pode ter liberado o fósforo fítico que não foi liberado no rúmen pelo tratamento com formaldeído.

Shanklin (2001) não obteve aumento na absorção de fósforo pela adição de fitase para ovinos. No entanto para bovinos alimentados com dietas de terminação Hurley et al. (2002) observaram que os níveis de suplementação entre 400 a 500 FTU/kg de ração melhora a absorção aparente de fósforo, cálcio e magnésio em dietas de terminação.

Em experimentos com vacas em lactação Knowlton et al. (2007), avaliaram a adição de celulase e fitase na dieta e observaram que os maiores valores de absorção aparente total para animais foram para animais que consumiram as enzimas (46%), quando comparados com dieta controle (39,6%).

Hankins-Herr et al. (2009) testando a adição de fitase (0 FTU e 600 FTU/kg de ração) em dietas alto grão com dois tipos de milho (milho controle ou milho com baixo teor de ácido fítico) e silagem de milho (15% na MS) não apresentaram efeitos da adição de fitase sobre absorção aparente de fósforo. Nos mesmos estudos, avaliando a adição de fitase em dietas alto grão com consumo restrito, não houve efeito da fitase na absorção aparente de fósforo.

Halas et al. (2009), avaliando o efeito de dois níveis de fitase (500 FTU e 1000 FTU/kg de ração) em dietas de suínos sobre o balanço de nitrogênio com condições

proteicas limitadas, obtiveram que a suplementação de fitase com 1000 FTU/kg de ração melhorou significativamente a taxa de crescimento de suínos e da eficiência de conversão alimentar. A utilização de dietas com baixa concentração de proteína na dieta aumentou o nitrogênio retido e a utilização de 500 FTU/kg de ração foi mais eficiente e assim recomendam que para dietas com teor de proteína limitada, os animais devem ser suplementados com 500 FTU/kg de ração. No entanto, Sands et al. (2009), não obtiveram nenhuma resposta quanto a suplementação de fitase e níveis de proteína na dieta.

Sands et al. (2009) em pesquisas com diferentes concentrações de fitase na dieta de suínos, em experimentos com diferentes concentrações de fitase (0; 600 e 1200 FTU/kg de ração) observaram aumento linear no ganho de peso com os níveis de concentração de fitase e aumento na disponibilidade de fósforo.

Buendía et al. (2010), em estudos com cordeiros recebendo dietas de terminação à base de sorgo (70% na MS) e o volumoso à base de palha de milho (9%) e aveia (9%), com níveis crescentes de adição de fitase (0; 750; 1500 e 2250 FTU/kg de ração), observaram que houve resposta linear na retenção de fósforo em animais, com o aumento na concentração de fitase na ração.

De acordo com Kincaid et al. (2005) o tipo de grão, métodos de processamento, e a taxa de passagem ruminal podem afetar a capacidade da fitase ruminal em acessar e hidrolisar completamente a fitato dos grãos. A fitase exógena, por aumentar a atividade total fitase na porção fluída do conteúdo ruminal, assim pode aumentar a extensão de hidrólise de fitato ruminal.

De acordo com Blaabjerg & Poulsen (2010), na alimentação animal o fósforo oriundo das rações pode representar de 60 a 80% onerando os custos com suplementação. Contudo poucos trabalhos são conduzidos com ruminantes abordando métodos que maximizem a utilização e minimizem a excreção fecal de fósforo.

Assim suplementação de fitase é considerada uma forma de reduzir tanto os custos com suplementação mineral e em muitos casos quando há problemas por contaminação de fósforo, reduz a sobrecarga de fosfato ao meio ambiente de forma a maximizar o uso pelo animal. (Ullah & Sethumadhavan, 2003).

Referências

- ADEOLA, O.; SANDS, J.S. Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. **Journal of Animal Science**, v.81, p.E78-E85, 2003.
- ANGEL, R.; TAMIM, N.M; APPLGATE, T.J. et al. Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. **Journal Applied Poultry Research**, v.11, p.471-480, 2002.
- APPLGATE, T.J.; ANGEL, R. Phytase: basics of enzyme function. **Farm Animal Management at Purdue**, p.1-5, AS-560-W, 2004.
- BLAABJERG, K.; POULSEN, H. D. Microbial phytase and liquid feeding increase phytate degradation in the gastrointestinal tract of growing pigs. **Livestock Science**, v.134, p.88-90, 2010.
- BRAVO, D.; MESCHY, F.; BOGAERT, C. et al. Ruminal phosphorus availability from several feedstuffs measured by the nylon bag technique. **Reproduction Nutrition Development**, v.40, p.149-162, 2000.
- BRAVO, D.; SAUVANT, D.; BOGAERT, C. et al. II. Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminants. **Reproduction Nutrition Development**, v.43, p.271-284, 2003a.
- BRAVO, D.; MESCHY, F.; BOGAERT, C. et al. Effects of fungal phytase addition, formaldehyde treatment and dietary concentrate content on ruminal phosphorus availability. **Animal Feed Science and Technology** v.99, p.73-95, 2002.
- BRAVO, D.; MESCHY, F.; BOGAERT, C.; SAUVANT, D. Phosphorus availability of oilseed meals determined by apparent faecal digestibility technique. **Animal Feed Science and Technology**, v.108, p.43-60, 2003b.
- BUENDÍA, G.; MENDOZA, G.; PINOS-RODRÍGUEZ, J.M. et al. Influence of supplemental phytase on growth performance, digestion and phosphorus balance of lambs fed sorghum-based diets. **Italia Journal of Animal Science**, v.9 e 36, p.187-189, 2010
- CHOAT, W.T.; KREHBIEL, C.R.; BROWN, M.S. Effects of restricted versus conventional dietary adaptation on feedlot performance, carcass characteristics, site and extent of digestion, digest kinetics, and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2726-2739, 2002.
- CLARK, J.H.; OLSON, K.C.; SCHMIDT, T.B. et al. Effects of dry matter intake restriction on diet digestion, energy partitioning, phosphorus retention, and ruminal fermentation by beef steers. **Journal of Animal Science**, v.85, p.3383-3390, 2007.
- CLARK, W.D.; WOHLT, J.E.; GILBREATH, R.L. et al. Phytate phosphorus intake and disappearance in the gastrointestinal tract of high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.3151-3155, 1986.
- COLUCCI, P. E.; CHASE, L.E.;VAN SOEST, J. Feed intake, apparent diet digestibility, and rate of particulate passage in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.1445. 1982.
- DIAS, R.S.; KEBREAD, E.; VITTI, D.M.S.S. et al. A revised model of for studying phosphorus and calcium kinetics in growing sheep. **Journal of Animal Science**, v.84, p.2787-2794, 2006.
- ELLIS, L.C.; TILLMAN, A.D. Utilization of phytin phosphorus in wheat bran by sheep. **Journal Animal Science**, v.20, p.606-607, 1961.
- GALYEAN, M.L. Review: Restricted and programmed feeding of beef cattle – definitions, application and results. **The Professional Animal Scientist**, v.15, p.1-6, 1999.

- GALYEAN, M.L.; WAGNER, D.G.; OWENS, F.N. Level of feed intake and site extent of digestion of high concentrate diets by steers. **Journal of Animal Science**, v.49, p.199-203, 1979.
- HALAS, V.; WINKELMOLEN, M.; KISS, B. et al. The effect of dietary phytase supplementation on the N-balance of growing pigs. **Italian Journal of Animal Science**, v.8, p.145-147, 2009.
- HANKINS-HERR, S.L.; ARSENEAU, J.D.; LEMENAGER, R.P. Effect low-phytate corn and phytase on nutrient excretion and performance of feedlot. **The Professional Animal Scientist**, v.25, p.360-369, 2009.
- HARLAND, B.F.; MORRIS, E. Phytate: A good a bad food component?. **Nutrition Research**, v.15, p.733-754, 1995.
- HILL, S.R.; KNOWLTON, K.F.; KEBREAD, E. et al. A model of phosphorus digestion and metabolism in the lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.91, p. 2021-2032, 2008.
- HU, H.L.; WISE, A.; HENDERSON, C. Hydrolysis of phytate and inositol tri-, tetra and penta-phosphates. **Nutrition Research**, v.16, p.781-787, 1996.
- HURLEY, L.A.; STANTON, T.L.; JAROSZ, M.J.; SCHUTZ, D. Case study: Effects of dietary phosphorus and microbial phytase level on beef finishing performance. **The Professional Animal Scientist**, v.18, p. 286-292, 2002.
- JONGBLOED, A.W.; KEMME, P.A. Effect of pelleting mixed feeds on phytase activity and the apparent absorbability of phosphorus and calcium in pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.28, p.233-242, 1990.
- KINCAID, R.L.; GARIKIPATI, D.K.; NENNICH, T.D. et al. Effect of grain source and exogenous phytase on phosphorus digestibility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2893-2902, 2005.
- KNOWLTON, K.F.; TAYLOR, M.S.; HILL, S.R. Manure nutrient excretion by lactating cows fed exogenous phytase and cellulose. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.4356-4360, 2007.
- LEI, X.G.; PORRES, J.M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology **Biotechnology Letters**, v.25, p.1787-1794, 2003.
- LOERCH, S.C.; FLUHARTY, F.L. Effects of programming intake on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, p.371-377, 1998.
- MJOUN K.; KALSCHER, K.F.; HIPPEN, A.R. et al. Ruminal phosphorus disappearance from corn and soybean feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.3938-3946, 2008.
- MONTGONOMERY, S.P.; DROUILLARD, J.S.; TITGEMEYER, E.C. Effects of wet corn gluten feed and intake level on diet digestibility and ruminal passage rate in steers. **Journal of Animal Science**, v.82, p.3526-3536, 2004.
- MORSE, D.; HEAD, H.H.; WILCOX, C.J. Disappearance of phosphorus in phytate from concentrates in vitro and from rations fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.1979-1986, 1992.
- MURPHY, T.A.; LOERCH, S.C. Effects of restricted feeding of growing steers on performance, carcass characteristics, and composition. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2497-2507, 1994.
- MURPHY, T.A.; LOERCH, S.C.; DEHORITY, B.A. The influence of restricted feeding on site and extend of digestion and flow of nitrogenous compounds to the duodenum in steers. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2487-2496, 1994.
- NAKASHIMA, B.A.; MCALLISTER, T.A.; SHARMA, R. et al. Diversity of phytases in the rumen. **Microbial Ecology**, v.53, p. 83-88, 2007.

- Nelson, T. S.; FERRARA, L. W.; STORER, N. L. Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. **Poultry Science**, v.47, p.1372, 1968.
- NELSON, T.S.; DANIELS, L.B.; HALL, J.R. et al. Hydrolysis of natural phytate phosphorus in the digestive tract of calves. **Journal of Animal Science**, v.42, p.1509-1512, 1976.
- NUTRIENT REQUIREMENTS OF BEEF CATTLE - NRC. Vol, 7 Edition. The National Academy Press, Washington, D.C. 2000. 249 p.
- NUTRIENT REQUIREMENTS OF DAIRY CATTLE - NRC. Vol, 7 Edition. The National Academy Press, Washington, D.C. 2001. 381 p.
- PARK, W.Y.; MATSUI, T.; KONISHI, C. et al. Formaldehyde treatment suppresses ruminal degradation of phytate in soyabean meal and rapeseed meal. **British Journal of Nutrition**, v. 81, p.467-471, 1999.
- PARK, W.Y; MATSUI, T.; YANO, H. Post-ruminal phytase degradation in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.101, p.55-60, 2002.
- PEREIRA, R. **Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação do fósforo fítico em frangos de corte**. 2010, 58p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- POULSEN, H.D.; BLAABJERG, K.; FEUERSTEIN, D. Comparison of different levels and sources of microbial phytases. **Livestock Science**, v.109, p.255-257, 2007.
- SANDS, J.S.; RAGLAND, D.; DILGER, R.N.; ADEOLA, O. Responses of pigs to *Aspergillus niger* phytase supplementation of low-protein or high-phytin diets. **Journal Animal Science**, v.87, p.2581-2589, 2009.
- SCHMIDT, T.B.; OLSON, K.C.; LINVILLE, M.L. et al. Effects of dry matter intake restriction on growth performance and carcass merit of finishing steers. **The Professional Animal Scientist**, v.21, p.332-338, 2005.
- SELLE, P.H.; RAVINDRA, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v.135, p.1-41, 2007.
- SHANKLIN, R.K. **Effect of form and amount of phosphorus and phytase supplementation on phosphorus utilization by ruminants**. 2001. 94f. Dissertação [Mestrado em Animal e Poultry Sciences] - Faculdade do Instituto Politécnico Virginia e Universidade Estadual. (Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg –Virginia).
- SINGH, B.; KUNZE, G.; SATYANARAYANA, T. Developments in biochemical aspects and biotechnological applications of microbial phytases. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, v.6, p.69-87, 2011.
- SOTO-NAVARRO, S.A.; KREHBIEL, C.R.; DUFF, G.C. et al. Influence of feed intake fluctuation and frequency of feeding on nutrient digestion, digest kinetics, and ruminal fermentation profiles in limit-fed steers. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2215-2222, 2000.
- STAHLMAN, M. **Phytase: anatomy of an invisible win-win technology**.2009. 110f. Dissertação [Mestrado em Ciências] - Universidade de Missouri-Columbia.
- STAHLMAN, M.; McCANN, L.M.J.; GEDIKOGLU, H. Adoption of phytase by livestock farmers. In: American Agricultural Economics Association, Annual Meeting, July page 27-29, Orlando, Flórida, 2008.
- STEINER, T.; MOSENTHIN, R.; ZIMMERMANN, B. et al. Distribution of phytase activity, total phosphorus and phytate phosphorus in legume seeds, cereals and cereal by-products as influenced by harvest year and cultivar. **Animal Feed Science and Technology**, v.133, p.320-334, 2007.
- TYRRELL, H. F.; MOE, P. W. Symposium: Production efficiency in the high producing cow. **Journal Dairy Science**, v.58, p.115, 1975.

- ULLAH, A.H.; SETHUMADHAVAN, K. Phy A gene product of *Aspergillus ficcum* and *Peniophora lycii* produces dissimilar phytases. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 303, p. 463-468, 2003.
- UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The Mineral Nutrition of Livestock**. London:CABI International, 1999. 614 p.
- WYSS, M.; BRUGGER, R.; KRONENBERGER, A. et al. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakiphosphate phosphohydrolases): Catalytic Properties. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p. 367-373, 1999.
- YOON, J.H.; THOMPSON, L.U.; JENKINS, D.J.A. The effect of phytic acid on in vitro rate of starch digestibility and blood glucose. **The American Journal Clinical Nutrition**, v.38, p. 835-842, 1983.
- ZINN, R.A.; ADAM, C.F.; TAMAYO, M.S. Interaction of feed intake level on comparative ruminal and total tract digestion of dry-rolled and steam-flaked corn. **Journal of Animal Science**, v.73, p.1239-1245, 1995.
- ZINN, R.A.; OWENS, F.N. Influence of feed intake level on site of digestion in steers fed a high concentrate diet. **Journal of Animal Science**, v.56, p.471-475, 1983.
- ZYLA, K.; LEDOUX, D.R.; VEUM, T.L. Complete enzymic dephosphorylation of corn-soybean meal feed under simulated intestinal conditions of the turkey. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.43, p.288-294, 1995.

II – OBJETIVO GERAL

Determinar os efeitos de diferentes níveis de consumo de matéria seca (consumo restrito) em dietas de confinamento sobre os parâmetros de fermentação e cinética ruminal, a digestibilidade parcial e total dos nutrientes, a absorção aparente parcial e total do cálcio e do fósforo, a eficiência de síntese de proteína microbiana e os parâmetros séricos;

Avaliar a eficiência da utilização do fósforo orgânico com crescentes concentrações da enzima fitase em dietas altos grão para bovinos de corte sobre os parâmetros de fermentação e cinética ruminal, a digestibilidade parcial e total dos nutrientes, a absorção aparente parcial e total do cálcio e fósforo, a eficiência de síntese de proteína microbiana e os parâmetros séricos.

III - Efeito do nível de consumo de matéria seca por bovinos de corte alimentados com dietas alto grão sobre a absorção aparente de nutrientes

RESUMO. O experimento foi conduzido para avaliar os efeitos dos diferentes níveis de consumo de matéria seca em dieta de confinamento (79% de NDT) sobre os parâmetros de fermentação ruminal, os parâmetros de cinética ruminal, a digestibilidade aparente parcial e total dos nutrientes, o desaparecimento pré-intestinal, intestinal e total do fósforo e do cálcio, a eficiência de síntese microbiana no rúmen, e parâmetros séricos (ureia, nitrogênio ureico, fósforo inorgânico e cálcio). Foram utilizados cinco bovinos machos castrados, anelados, com 18 meses de idade, com peso corporal médio de 365 ± 48 kg, providos de cânula ruminal. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5×5 . Os animais foram alimentados com a mesma dieta, tiveram consumo restrito de matéria seca em relação ao peso corporal (PC), compondo os tratamentos: 1) 1,6%; 2) 1,7%; 3) 1,8%; 4) 1,9% e 5) 2,0%. A digestão total (g/dia) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não fibrosos (CNF), fósforo (P) e cálcio (Ca), aumentaram linearmente em resposta aos níveis de consumo de matéria seca. Os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca e dos demais nutrientes, desaparecimento e absorção aparente de fósforo e de cálcio não foram influenciados pelos diferentes níveis de consumo. Os valores de pH e as concentrações de amônia, assim como seus pontos críticos, não foram influenciados pelos diferentes níveis de consumo. Para os parâmetros de cinética ruminal, resposta linear foi obtida para taxa de fluxo (L/h) aos níveis de consumo de matéria seca. O consumo restrito de matéria seca não influenciou sobre a eficiência de síntese de proteína microbiana e os parâmetros séricos, como ureia, nitrogênio ureico fósforo inorgânico e cálcio.

Palavras-chave: alimentação restrita, digestibilidade de nutrientes, eficiência de síntese de proteína microbiana

1 **III - Effect of dry matter intake level for beef cattle fed high grain diet on the**
2 **apparent absorption of nutrients**

3 ABSTRACT. The aim of this study was to evaluate the effects of different levels
4 of dry matter intake in feedlot diets (79% TDN) on parameters of rumen fermentation
5 and rumen kinetic, partial and total apparent digestibility of nutrients, pre-intestinal,
6 intestinal and total phosphorus and calcium disappearance, efficiency of microbial
7 synthesis in the rumen and serum parameters (urea, urea nitrogen, inorganic phosphorus
8 and calcium). Five castrated zebu steers (averaging 18 months of age and 365 ± 48 kg
9 of BW) fitted with ruminal cannulas were used in a 5×5 Latin-square design. Animals
10 were fed same diet with intake restriction based on body weight, according to the
11 treatments: 1) 1.6%; 2) 1.7%; 3) 1.8%; 4) 1.9%; and 5) 2.0%. Total digestion (g/d) of
12 dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral
13 detergent fiber (NDF), total carbohydrates (TC), non-fiber carbohydrates (NFC),
14 phosphorus (P), and calcium (Ca) were linear increased by dry matter intake levels. The
15 digestibility coefficients of dry matter and of nutrients, phosphorus and calcium
16 disappearance and absorption were not affected by intake levels. Values of pH and
17 ammonia, as well as critic points were not affected by different levels of intake. For
18 rumen kinetic parameters, linear effect was observed for flow rate (L/h). The intake of
19 dry matter restricted did not influence the rumen microbial synthesis efficiency and
20 serum parameters, such as urea, urea nitrogen, inorganic phosphorus and calcium.

21
22 **Key words:** digestibility of nutrients, efficiency of microbial protein synthesis,
23 restricted feeding

24

1 **Introdução**

2 As pressões sofridas pelos confinadores para atender aos padrões ambientais estão
3 cada vez mais rígidas e podem acarretar na utilização de técnicas de gestão alimentar e
4 admissão como ferramentas para alteração na excreção de nutrientes (Galyean, 1999).
5 As abordagens de gestão e admissão são de forma simplificada divididas em
6 alimentação restrita e alimentação programada.

7 O consumo ou alimentação restrita se refere a prática de restringir o consumo de
8 algum componente da dieta a um nível inferior ao *ad libitum*. No entanto, a alimentação
9 programada é um método no qual as equações de energia líquida são usadas para
10 calcular a quantidade de alimento necessário para as taxas de manutenção e de ganho
11 desejadas (Galyean, 1999).

12 De acordo com Colucci et al.(1982), quando o consumo de matéria seca diminui a
13 digestibilidade aumenta. Para animais confinados, a restrição alimentar programada
14 pode proporcionar menores custos e melhorar a eficiência alimentar (Schmidt et al.,
15 2005). Segundo Clark et al. (2007), as mudanças na digestibilidade aparente são
16 acompanhadas pelas mudanças na ingestão de energia metabolizável ou na eficiência
17 pelo animal.

18 O desempenho de bovinos em confinamento será economicamente mais favorável
19 com consumo voluntário dos animais, no entanto, a máxima eficiência de produção
20 pode ocorrer em níveis de matéria seca inferiores. Benefícios associados com a restrição
21 programada do consumo de matéria seca podem melhorar a digestibilidade dos
22 nutrientes e a eficiência alimentar (Clark et al., 2007).

23 Galyean et al. (1979), avaliando o consumo restrito (1 a 2 vezes a exigência de
24 manutenção) em animais consumindo dietas alto grão (84% de milho MS), observaram
25 que a digestibilidade da matéria seca e da matéria orgânica foram reduzidas com

1 aumento no consumo, sugerindo que o nível de consumo influencia a digestibilidade da
2 matéria seca, matéria orgânica e amido em ricas em concentrado.

3 Da mesma forma, Zinn & Owens (1983), em pesquisas com consumo restrito por
4 animais alimentados com dietas alto grão, à base de milho (63%) e níveis crescentes de
5 consumo de matéria seca (1,2; a 2,1% PC) apresentaram que a digestibilidade ruminal
6 da matéria orgânica, do amido e da fibra em detergente ácido, reduziu linearmente com
7 o aumento no consumo de matéria seca. A redução na digestibilidade da matéria
8 orgânica foi atribuída a redução no tempo de retenção no rúmen e no trato total.

9 Desta forma objetivou-se avaliar os efeitos dos diferentes níveis de consumo de
10 matéria seca em dieta de confinamento (79% de NDT) sobre os parâmetros de
11 fermentação e cinética ruminal, a digestibilidade aparente parcial e total dos nutrientes,
12 desaparecimento pré-intestinal, intestinal e total e absorção aparente parcial e total do
13 fósforo e do cálcio, a eficiência de síntese microbiana no rúmen e os parâmetros séricos.

14

15

Material e Métodos

16 O experimento foi conduzido no setor de Avaliação de Alimentos para Animais
17 Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) e no Laboratório de Análises
18 de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), ambos pertencentes à Universidade Estadual
19 de Maringá, durante o período de outubro de 2009 a março 2011.

20 Foram utilizados cinco bovinos machos castrados, anelados, com 18 meses de
21 idade, com peso corporal (PC) médio de 365 ± 48 kg, providos de cânula ruminal. O
22 delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5. Os animais
23 permaneceram em uma instalação totalmente coberta com piso de concreto, em baias
24 individuais com $8,75 \text{ m}^2$ (2,5 x 3,5 m) de área útil. Todas as baias continham
25 comedouro de polietileno individual e bebedouro automático. Foi mantido um manejo

1 higiênico sanitário adequado das instalações. Os animais foram alimentados duas vezes
2 ao dia, pela manhã as 08horas e a tarde as 16 horas.

3 Todos os animais, em todos os tratamentos foram alimentados com a mesma dieta
4 (Tabela 1), mas receberam diferentes quantidades de MS por dia. Os tratamentos foram
5 compostos por níveis de consumo de matéria seca em relação ao peso corporal (PC)
6 animal, como segue: 1) 1,6%; 2) 1,7%; 3) 1,8%; 4) 1,9% e 5) 2,0%.

7 Os animais foram pesados no início de cada período experimental com o objetivo
8 de ajustar o fornecimento de matéria seca. Os períodos experimentais tiveram duração
9 de 21 dias, sendo os últimos sete dias destinados a coleta de amostras (14° ao 21° dia).

10 Para determinação do fluxo omasal e da produção fecal todos os animais
11 receberam uma dose diária de 10 g de dióxido de titânio (TiO_2) pela manhã, diretamente
12 no rúmen, a partir do 7° dia de cada período experimental.

Tabela 1. Composição percentual e química dos ingredientes e da ração total com base na matéria seca

Ingredientes	%	Composição química (%)									
		MS	PB	FDN	FDA	EE	CHOT	CNF	P	Ca	NDT ²
Dieta total	100,00	77,64	12,00	19,78	9,36	3,41	83,40	63,67	0,26	0,32	79,83
Silagem de Milho	20,00	26,19	6,30	53,40	33,04	2,42	88,31	35,00	0,18	0,14	65,60
Milho moído	73,48	89,86	8,52	11,54	3,25	3,86	86,42	74,80	0,26	0,03	88,70
Farelo de Soja	3,60	91,26	50,32	12,40	9,23	1,73	41,69	31,94	0,73	0,33	88,00
Farelo de Trigo	0,39	91,27	17,94	35,97	11,41	2,81	74,54	38,54	1,04	0,09	72,00
Calcário	0,87	99,00								34,00	
Ureia (eq. proteico)	1,00	99,00	281,00								
Cloreto de Sódio	0,09	99,00									
Filtrado de enxofre	0,07	99,00									
Premix ¹	0,50	99,00									

¹Composição do premix isento de fósforo = Iodo – 140,3 ppm; Zinco – 8000,33 ppm; lasalocida - 0,44%; Selênio - 40,05 ppm; Cobalto – 60 ppm; Cobre – 3000 ppm; Manganês – 6000,1 ppm. ²Valores estimados pelo NRC (2000). MS – matéria seca; PB – proteína bruta; FDN_{cp} – fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA – fibra em detergente ácido; CHOT – carboidratos totais; CNF – carboidratos não fibrosos; P – fósforo; Ca – cálcio; NDT – nutrientes digestíveis totais

1 Com o objetivo de determinar a digestibilidade parcial e total da matéria seca
2 (MS), matéria orgânica (MO), da proteína bruta (PB), da fibra em detergente neutro
3 corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não
4 fibrosos (CNF), e o desaparecimento parcial e total de fósforo e cálcio foram colhidas
5 amostras de digesta omasal (~500 mL) por meio do orifício retículo omasal e, de fezes
6 (~200 g).

7 As amostras de digesta omasal e de fezes foram colhidas a partir do 14^o dia, por
8 um período total de seis dias, em diferentes horários (7; 10; 13; 16; 19; e 22 horas),
9 totalizando seis amostras de digesta omasal e seis amostras de fezes por
10 animal/tratamento/período. A coleta de digesta omasal foi realizada por sucção,
11 segundo técnica descrita por Leão et al. (2005). As fezes foram coletadas diretamente na
12 ampola retal.

13 As amostras (digesta omasal e de fezes) foram acondicionadas em sacos plásticos,
14 devidamente identificados e congeladas (-20^o C) para posterior processamento e
15 análises. Posteriormente as amostras de digesta omasal e de fezes foram descongeladas,
16 pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C por 72 horas, moídas
17 individualmente em moinhos tipo Willey, utilizando peneira com crivos de 1 mm, em
18 seguida amostras foram misturadas com base no percentual do peso seco, para compor
19 amostras compostas de digesta omasal e fezes por animal/tratamento/período.

20 Quando houve sobras no comedouro, as mesmas foram colhidas diariamente,
21 pesadas e amostradas, sendo, então, congeladas. Posteriormente estas amostras foram
22 processadas da mesma forma que foi descrito anteriormente para as amostras de digesta
23 omasal e de fezes. As amostras dos alimentos usados para compor as dietas foram
24 realizadas, quinzenalmente e, misturadas em amostras compostas, para cada período
25 experimental.

1 As amostras dos alimentos utilizados nas dietas experimentais, das sobras, de
2 digesta omasal e de fezes foram analisadas para teores de MS, MO, PB, EE e Ca
3 (AOAC, 1990), FDN (Van Soest et al., 1991) o qual foi corrigido para cinzas e proteína,
4 fósforo (P) (Fiske & Subbarow, 1925). Os carboidratos totais (CHOT) foram obtidos
5 pela equação de Sniffen et al. (1992). As amostras de digesta omasal e de fezes foram
6 analisadas para titânio segundo Myers et al. (2004).

7 A porcentagem de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculada segundo a
8 equação descrita por Sniffen et al. (1992):

$$9 \quad NDT = PBD + FDND + CNFD + (EED \times 2,25)$$

10 em que NDT – nutrientes digestíveis totais; PBD – proteína bruta digestível; FDND –
11 fibra em detergente neutro digestível; CNFD – carboidratos não fibrosos digestíveis e
12 EED – extrato etéreo digestível.

13 Os CNF foram calculados segundo NRC (2001):

$$14 \quad CNF_{cp} = 100 - (\%FDN_{cp} + \%PB + \%EE + \%MM)$$

15 sendo: CNF_{cp} – carboidratos não fibrosos, corrigido para cinzas e proteína; MM –
16 matéria mineral, as demais abreviações foram citadas acima.

17 No 14º e 17º dia de cada período experimental foram coletadas amostras “spot” de
18 urina 4h após a alimentação, durante a micção espontânea. Imediatamente após cada
19 coleta, as amostras foram homogeneizadas, filtradas e alíquotas de 15 mL de urina
20 foram diluídas em 135 mL de H₂SO₄ a 0,036 N (1:9). Após serem diluídas e
21 acidificadas, foi medido o pH de cada amostra e realizado ajuste para valores inferiores
22 a 3, evitando assim a destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do
23 ácido úrico. Em seguida, as amostras armazenadas em tubos de plástico foram
24 congeladas a -20 °C para posteriores análises de creatinina, alantóina e ácido úrico.

1 A concentração de creatinina na urina foi determinada pelo método de ponto final
2 utilizando picrato e acidificante (GoldAnalisa®). As análises de alantoína foram
3 realizadas pelo método colorimétrico de Fujihara et al. (1987), descrito por Chen &
4 Gomes (1992) que se baseia na hidrólise alcalina a 100 °C da alantoína a ácido
5 alantoíco, que, posteriormente é convertido em ureia e ácido glioxílico em solução
6 ácida. Este por sua vez reage com hidrocloreto de fenilhidrazina, para produzir
7 fenilhidrazona do ácido. Este produto forma um cromógeno instável, com ferricianeto
8 de potássio, que foi dosado colorimetricamente a 522 nm. As análises de ácido úrico
9 foram determinadas por kits comerciais (GoldAnalisa®) em que o ácido úrico é oxidado
10 pela uricase em alantoína, CO₂ e H₂O. Por meio de uma reação oxidativa, catalisada
11 pela peroxidase, o peróxido de hidrogênio formado reage com diclorofenolsulfonato e
12 4-aminoantipirina, produzindo uma antipirilquinonimina de cor vermelha. A
13 absorvância do complexo formado, medida em 520 nm, foi considerada diretamente
14 proporcional a concentração de ácido úrico da amostra. A excreção total de derivados de
15 purina foi calculada pela soma da excreção urinária quantidades de alantoína e ácido,
16 expressas em mmol/dia, e obtida pelo produto entre a concentração na urina e o volume
17 urinário.

18 O volume diário de urina produzido por cada animal por sua vez, foi estimado
19 multiplicando o respectivo peso corporal pela excreção média de creatinina de 27,39
20 mg/kg de PC/dia encontrado por Barbosa et al. (2006) para animais de mesmo padrão
21 dos utilizados no experimento (zebuínos machos castrados) e dividindo esse produto
22 pela concentração de creatinina (mg/L) de cada amostra “spot” de urina.

23 As purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da
24 excreção de derivados de purina (Y, mmol/dia) por intermédio da equação:
25 $Y = 0,85X + 0,147 \times PC^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como

1 derivados de purina (Chen & Gomes, 1992) e $0,147 \times PC^{0,75}$, a excreção de purinas de
2 origem endógena para gado Zebuino (Chen & Ørskov, 2004). O fluxo intestinal de
3 compostos nitrogenados (Y, g de N/dia) foi calculado segundo Chen & Gomes (1992),
4 em função das purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando a equação:
5 $Y = (70X)/(0,83 \times 0,116 \times 1000)$, em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mg de
6 N/mmol); 0,83 é a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 a relação N purina :
7 N total nas bactérias.

8 No 15º dia de cada período experimental, foi realizada coleta de sangue em tubos
9 vacutainer, com e sem a adição de anticoagulante, por meio de punção da veia jugular.
10 Para obtenção do plasma as amostras que continham anticoagulante foram centrifugadas
11 a 2500 g por 15 minutos a 4 °C. O soro foi obtido por centrifugação a 2500 g por 15
12 minutos a 24°C. No soro foram analisados fósforo inorgânico (Little et al., 1971), e
13 cálcio (colorimétrico, kits comerciais). No plasma determinou-se a concentração de
14 ureia, segundo o método diacetil modificado (GoldAnalisa®), e o N ureico no plasma
15 (NUP) foi obtido por meio do produto da concentração da ureia pelo valor 0,466
16 correspondente ao teor de N na ureia.

17 Para determinar o pH e a concentração de amônia (NH₃) no líquido ruminal,
18 foram colhidas amostras do fluído ruminal (aproximadamente 150 mL) no 21º dia de
19 cada período experimental, via cânula ruminal, nos tempos 0; 2; 4; 6 e 8 horas. O tempo
20 zero correspondeu a amostra colhida imediatamente antes do fornecimento da
21 alimentação da manhã (8h), e o tempo 8, imediatamente antes do segundo fornecimento
22 (16h).

23 O pH foi medido imediatamente após a coleta e outra alíquota de 50 mL do fluído
24 ruminal foram acidificados com 1 mL de ácido sulfúrico H₂SO₄ (1:1), foram
25 acondicionadas em frasco de polietileno e armazenadas para posterior análise de amônia.

1 As análises de amônia nas amostras do líquido ruminal foram realizadas de acordo com
2 a metodologia descrita por Fernner (1965) e modificada por Vieira (1980).

3 Para determinação da cinética da fase líquida foram administrados no rúmen dos
4 animais 30 g de Co-EDTA diluídos em 500 mL de água destilada antes da primeira
5 alimentação e colocando diretamente no rúmen em diferentes locais, em dose única para
6 a determinação da taxa de passagem de líquidos (Udén et al., 1980). Foram coletados
7 cerca de 50 mL de líquido ruminal antes de colocar o Co-EDTA e a cada 2h até
8 completar 12h, e uma última coleta às 24h após a administração do marcador.

9 A taxa de passagem de líquido e as curvas de concentração ruminal do cobalto
10 EDTA foram ajustadas ao modelo exponencial unicompartmental de Hungate (1966),
11 citado por Colucci (1984): $Y_{co} = A \cdot e^{(-k_1 \cdot t)}$, em que Y_{co} = concentração do indicador no
12 tempo t ; A = concentração de equilíbrio do cobalto; k_1 = taxa de passagem ou de
13 diluição do cobalto; e t = tempo de amostragem. Os parâmetros da dinâmica da fase
14 líquida foram calculados de acordo com Colucci et al. (1990) sendo: tempo de retenção
15 no rúmen (h) = 1/ taxa de passagem de fluidos ($TpRet = 1/k_1$ %/h); volume de líquido
16 ruminal (L) = quantidade de cobalto fornecida (mg) / A mg/L ($VR = Co/A$); taxa de
17 fluxo ruminal (L/h) = taxa de passagem ou de diluição do cobalto multiplicado pelo
18 volume ruminal ($k_1 \times VR$); taxa de reciclagem da fase líquida ruminal (n° de vezes/dia)
19 = $24h/TpRet$, calculada conforme Maeng & Baldwin (1976).

20 Os dados foram interpretados por uma análise de variância adotando 5% de
21 probabilidade, quando houve efeito significativo para tratamento procedeu-se a análise
22 de regressão polinomial. Para medidas repetidas no tempo (pH e concentração de
23 amônia) foi considerado o efeito de horário de coleta e a interação tratamento x horário
24 de coleta, e submetidos a análise de regressão. Para os parâmetros de digestão ruminal e
25 intestinal e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal e intestinal da matéria seca

1 e dos demais nutrientes, o quadrado latino foi analisado com uma parcela perdida, pelo
2 indicador subestimar os valores do fluxo omasal.

3 Os dados referentes aos valores de pH e às concentrações de amônia no líquido
4 ruminal também foram analisados como segue: foi ajustada uma equação para pH e
5 outra para amônia em função do tempo, para cada animal dentro de cada tratamento e
6 período, com estas equações foram calculados para cada animal o tempo transcorrido
7 para atingir o máximo de acidez (pH) e as concentrações máximas e mínimas de
8 amônia. Esses pontos críticos foram analisados como variáveis biológicas, por ANOVA
9 e quando significativos, foram ajustadas equações de regressão em função dos níveis de
10 consumo de matéria seca.

11

Resultados e Discussão

Os diferentes níveis de consumo de matéria seca e dos nutrientes aumentaram linearmente ($P < 0,01$) (Tabela 2). A resposta linear ao nível de consumo ocorreu em todas as unidades (Tabela 2). Essa resposta era esperada, uma vez que os tratamentos eram compostos pela mesma dieta, ocorrendo diferença apenas para o fornecimento em relação ao peso corporal do animal, com alta ingestão de concentrado (80%).

Os alimentos utilizados para compor a dieta foram suficientes para suprir as exigências de fósforo dos animais (Tabela 1) e, desta forma, pode-se avaliar a absorção aparente do fósforo contido na dieta, sem adição de fontes suplementares. O consumo de fósforo aumentou linearmente ($P < 0,001$, Tabela 2) em resposta ao aumento do consumo de matéria seca.

O NRC (2000), considera que a exigência de fósforo para manutenção em bovinos de corte de 16 mg/kg de peso corporal, obtido a partir de dados de perdas endógenas fecais, em novilhos alimentados com concentrações de fósforo próximas as exigência de manutenção.

Considerando que a exigência de manutenção é 16 mg de fósforo/kg PC, animais com peso médio de 365 kg devem consumir no mínimo 5,82 gramas de fósforo/dia, para atender as exigências de manutenção. No experimento, o consumo de fósforo foi superior a este valor, inclusive no menor nível de consumo de matéria seca (1,6%) e o consumo diário foi de 14,69 g (Tabela 2), resultado do tipo de dieta utilizada.

Tabela 2. Consumo em g/dia, % do peso corporal (PC) e g/kg de peso metabólico (g/kg^{0,75}) de matéria seca e de nutrientes por bovinos de corte com níveis crescentes de matéria seca

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
	Consumo (g/dia)							
MS	5736,76	6209,40	6637,77	7260,55	7223,74	$\hat{Y} = -631,56 + 4025,11X$	0,001	235,37
MO	5593,10	6056,51	6474,00	7081,32	7045,22	$\hat{Y} = -622,28 + 3929,06X$	0,001	228,81
PB	671,03	720,42	772,14	841,86	848,03	$\hat{Y} = -851,03 + 475,44X$	0,001	32,72
FDNcp	1134,34	1231,16	1281,20	1413,13	1489,69	$\hat{Y} = -296,90 + 892,67X$	0,001	34,15
EE	195,36	212,95	229,05	246,87	250,68	$\hat{Y} = 33,21 + 144,55X$	0,001	7,20
CHOT	4788,99	5191,81	5548,06	6075,23	6025,69	$\hat{Y} = 516,30 + 3357,8X$	0,001	191,00
CNF	3655,32	3962,23	4271,15	4668,80	4543,51	$\hat{Y} = -249,11 + 2482,95X$	0,001	166,26
P	14,69	15,85	17,06	18,89	18,88	$\hat{Y} = -3,47 + 11,42X$	0,001	0,60
Ca	18,07	19,16	19,97	21,65	21,68	$\hat{Y} = 2,65 + 9,70X$	0,030	1,30
NDT	4082,37	4583,21	4688,21	5087,95	5302,62	$\hat{Y} = -552,56 + 2945,24X$	0,003	259,20
	Consumo (% PC)							
MS	1,54	1,67	1,75	1,93	1,94	$\hat{Y} = -0,14 + 1,06X$	0,001	0,06
MO	1,50	1,63	1,70	1,88	1,89	$\hat{Y} = -0,13 + 1,03X$	0,001	0,06
FDNcp	0,31	0,33	0,34	0,37	0,40	$\hat{Y} = -6,37 + 0,23X$	0,001	0,01
NDT	1,09	1,23	1,22	1,35	1,42	$\hat{Y} = -0,16 + 0,79X$	0,004	0,07
	Consumo (g/kg ^{0,75})							
MS	67,63	73,16	77,14	84,84	85,17	$\hat{Y} = -6,60 + 46,77X$	0,001	2,75
MO	65,94	71,36	75,24	82,74	83,07	$\hat{Y} = -6,48 + 45,63X$	0,001	2,68
FDNcp	13,39	14,49	14,90	16,48	17,49	$\hat{Y} = -3,01 + 10,20X$	0,001	0,39
NDT	47,80	54,02	54,00	59,47	62,42	$\hat{Y} = -6,91 + 34,69X$	0,004	3,07

¹Tratamento – níveis de consumo de matéria seca em relação ao peso corporal. ²Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não fibrosos (CNF), fósforo (P), cálcio (Ca) e nutrientes digestíveis totais (NDT). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1 Segundo Bravo et al. (2000) a liberação de fósforo no rúmen é de 88,8% para grão
2 de milho, 85,3% para o farelo de soja e de 84,7% para o farelo de trigo.

3 Para o cálcio a exigências de manutenção (NRC, 2000) é de 15,4 mg de Ca/kg PC.
4 Assim considerando as exigências mínimas de manutenção, animais com 365 kg, devem
5 consumir no mínimo 5,46 g/dia. O consumo de cálcio foi superior aos valores mínimos
6 exigidos para manutenção, até pelo menor nível de consumo (1,6% PC, Tabela 2).

7 A estimativa do ganho médio diário estimado para os diferentes níveis de
8 consumo de matéria seca (Tabela 2) seriam de 0,8; 0,9; 1,0; 1,2 e 1,2 kg/dia para 1,6;
9 1,7; 1,8; 1,9 e 2,0 % do PC, respectivamente. As concentrações de fósforo exigidas para
10 estes ganhos estão entre 0,24 a 0,26 % e para cálcio de 0,42 a 0,44%. A dieta (Tabela 1)
11 manteve a concentrações de fósforo adequadas, no entanto, para o cálcio as
12 concentrações obtidas foram inferiores, no entanto, como já exposto, os valores de
13 consumo de cálcio estiveram acima das exigências mínimas de manutenção (Tabela 2).

14 O consumo de NDT aumentou linearmente ($P=0,003$, Tabela 2) em resposta aos
15 níveis de consumo de matéria seca, independente da unidade utilizada para expressá-lo
16 (g/dia, % do PC, e $g/kg^{0,75}$), o que é atribuído ao consumo e digestibilidade dos demais
17 nutrientes.

18 O fluxo omasal (g/dia) da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em
19 detergente neutro corrigida para cinzas e proteína, extrato etéreo, carboidratos totais,
20 carboidratos não fibrosos, fósforo e cálcio não foram influenciados ($P>0,05$, Tabela 3)
21 pelos níveis crescentes de consumo de matéria seca. Zinn & Owens (1983), em estudos
22 semelhantes com consumo restrito com uma maior amplitude (1,2; 1,5; 1,8 e 2,1% do
23 peso corporal) observaram que o fluxo abomasal de nitrogênio teve resposta linear em
24 função do consumo crescente de matéria seca, esse comportamento não foi obtido no

1 presente estudo, o que sugere a menor amplitude dos níveis de ingestão e menor
2 variabilidade do fluxo.

3 Os níveis crescentes de matéria seca produziram efeito linear no fluxo fecal da
4 matéria seca ($P=0,05$, Tabela 3), da matéria orgânica ($P=0,05$) e dos carboidratos totais
5 ($P=0,05$). Zinn & Owens (1983), apresentaram efeitos similares para a excreção do
6 nitrogênio, com o acréscimo no consumo. De acordo com Geisert et al. (2010), com o
7 aumento do consumo de alimento ocorre um aumento gradativo na excreção fecal dos
8 nutrientes, entretanto nem todos os nutrientes tiveram as mesmas repostas ao níveis
9 crescentes de consumo, dificultando discussões biológicas.

10 Para o fluxo fecal da FDN o obtido efeito foi cúbico ($P=0,04$, Tabela 3) em
11 resposta aos níveis de consumo de matéria seca. Em dietas com alto teor de
12 concentrado, o aproveitamento da fibra pode ser comprometido pelo alto teor de amido,
13 uma vez a rápida fermentação do amido causa um acúmulo de ácidos, reduzindo o pH
14 ruminal. Com a redução no pH o crescimento dos microrganismos celulolíticos diminui,
15 os quais são responsáveis pela digestão da parede celular da forragem. No entanto, o
16 ponto crítico de mínimo (pH mínimo, Tabela 8) do pH ruminal não esteve abaixo dos
17 níveis críticos (abaixo de 6,2) para que houvesse prejuízo na digestão da fibra.

18

Tabela 3. Fluxo omasal e fecal da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos totais, carboidratos não fibrosos, fósforo e cálcio

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
Fluxo omasal (g/dia)								
MS ²	3583,12	3260,35	3786,91	3628,55	4136,88	$\hat{Y} = 3673,73$	0,14	151,06
MO	3252,64	2942,94	3352,15	3270,93	3738,28	$\hat{Y} = 3310,35$	0,15	138,62
PB	727,45	696,95	836,39	783,58	865,19	$\hat{Y} = 779,44$	0,09	32,19
FDNcp	566,86	687,29	841,29	666,54	807,63	$\hat{Y} = 709,03$	0,15	43,68
EE	176,74	127,55	105,75	148,37	205,35	$\hat{Y} = 155,93$	0,47	18,28
CHOT	2404,02	2176,72	2481,69	2404,48	2739,64	$\hat{Y} = 2439,33$	0,23	114,64
CNF	1781,59	1431,15	1568,72	1672,43	1860,09	$\hat{Y} = 1665,95$	0,41	94,36
P	31,81	31,84	39,05	31,24	35,99	$\hat{Y} = 33,62$	0,42	1,35
Ca	23,08	22,04	28,05	25,17	26,44	$\hat{Y} = 24,76$	0,32	1,42
Fluxo fecal (g/dia)								
MS	1905,84	18805,88	2227,08	2489,44	2239,19	$\hat{Y} = -146,96 + 1275,25X$	0,05	92,69
MO	1763,59	1749,17	2077,23	2313,33	2080,71	$\hat{Y} = -160,34 + 1198,41X$	0,05	88,53
PB	244,98	232,98	261,73	305,73	262,73	$\hat{Y} = 261,63$	0,10	9,42
FDNcp	488,53	479,55	570,71	728,85	619,77	$\hat{Y} = 173251 - 292576X + 164356X^2 - 30613X^3$	0,04	29,49
EE	43,44	44,18	59,54	60,77	49,54	$\hat{Y} = 51,49$	0,21	3,21
CHOT	1248,94	1255,51	1405,85	1643,29	1484,87	$\hat{Y} = -139,68 + 859,65X$	0,05	63,93
CNF	986,63	992,95	1185,24	1217,98	924,11	$\hat{Y} = 1067,14$	0,68	55,06
P	7,50	7,73	9,56	11,00	9,25	$\hat{Y} = 2202 - 3750X + 2126X^2 - 399X^3$	0,02	0,37
Ca	12,72	11,94	14,82	16,93	14,37	$\hat{Y} = 14,16$	0,12	0,76

¹Tratamento – níveis de consumo de matéria seca em relação ao peso corporal. ²Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não fibrosos (CNF), fósforo (P) e cálcio (Ca). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1 O plano nutricional produziu um efeito cúbico ($P=0,02$, Tabela 3) sobre a
2 excreção de fósforo. Louvandini et al. (2008), Vasconcelos et al. (2009) e Geisert et al.
3 (2010), observaram aumento linear na excreção de fósforo através das fezes a medida
4 que o fósforo da dieta aumentou. A maior proporção de fósforo nas fezes de origem
5 alimentar, sem suplementação é atribuído a menor disponibilidade na dieta. A menor
6 disponibilidade e excreção de nutrientes podem ser atribuídas a ligação com compostos
7 orgânicos, isso faz com que a absorção seja mais difícil e conseqüentemente em altos
8 níveis de consumo ocorre um aumento gradativo na excreção fecal do nutriente.

9 A digestão ruminal (DR), digestão intestinal e os coeficientes de digestibilidade
10 aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da matéria seca, matéria
11 orgânica e proteína bruta não foram influenciados ($P>0,05$, Tabela 4) pelos níveis
12 crescentes de consumo de matéria seca. Em outros estudos com consumo restrito,
13 Galyean et al. (1979) e Zinn & Owens (1983), observaram que o CDR da matéria seca,
14 da matéria orgânica, do amido e da fibra em detergente ácido reduziram a medida em
15 que os níveis de consumo aumentaram. Galyean et al. (1979) sugeriram que esta
16 redução é atribuída a menor digestibilidade ruminal com acréscimo na ingestão de
17 alimento. Rahnema et al. (1987) em estudos com consumo restrito com dois
18 tratamentos, 95% do consumo voluntário e 75% do consumo voluntário, não
19 apresentaram diferenças entre os tratamentos para a digestão ruminal da matéria seca e
20 da proteína bruta. Galyean et al. (1979), quando avaliaram os CDI da matéria seca e da
21 matéria orgânica, não observaram efeito pelos diferentes níveis de consumo para estas
22 variáveis.

23 Para a digestão total (DT) da matéria seca ($P=0,02$, Tabela 4), da matéria orgânica
24 ($P=0,02$) e da proteína bruta ($P=0,02$), aumentou linearmente (Tabela 4) em resposta aos
25 níveis crescentes de consumo. Entretanto, quando obtidos os CDT desses nutrientes

1 estes não foram influenciados ($P>0,05$). Barbosa et al. (2011) trabalhando com bovinos
2 Nelore, recebendo dietas com uma razão volumoso:concentrado inferior (60:40) e níveis
3 de ingestão de matéria seca de 1,16; 1,46; 1,76 e 1,86% em relação ao peso corporal,
4 observaram que houve uma redução linear na digestibilidade aparente total da matéria
5 seca, matéria orgânica e dos carboidratos não fibrosos, com o acréscimo no consumo.
6 Para os demais nutrientes como a proteína bruta, o extrato etéreo, a fibra em detergente
7 neutro, os nutrientes digestíveis totais, os autores não apresentaram influências do
8 consumo sobre a digestibilidade total destes nutrientes, e atribuíram estes resultados a
9 faixa estreita de ingestão (0,68%).

Tabela 4. Digestão ruminal, intestinal, total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
	Matéria Seca (MS)							
DR ²	2420,27	2949,05	3468,40	3631,99	3086,86	$\hat{Y} = 3110,26$	0,23	226,29
CDR	40,11	46,76	46,34	49,91	41,96	$\hat{Y} = 45,11$	0,76	2,46
DI	1759,69	1379,47	1633,87	1139,11	1897,70	$\hat{Y} = 1546,44$	0,91	176,44
CDI	46,55	40,15	42,22	28,69	44,79	$\hat{Y} = 40,05$	0,60	3,66
DT	3830,92	4328,51	4410,69	4771,10	4984,55	$\hat{Y} = -484,59 + 2749,86X$	0,02	174,92
CDT	66,13	69,78	65,81	65,54	69,20	$\hat{Y} = 67,27$	0,83	1,24
	Matéria Orgânica (MO)							
DR	2597,69	3113,57	3725,29	3810,39	3306,95	$\hat{Y} = 3305,51$	0,19	220,99
CDR	44,22	50,65	51,33	53,63	46,26	$\hat{Y} = 49,23$	0,74	2,34
DI	1568,88	1193,77	1350,35	957,60	1657,56	$\hat{Y} = 1335,05$	0,97	164,08
CDI	45,46	38,12	39,28	26,37	43,38	$\hat{Y} = 38,14$	0,60	3,86
DT	3829,51	4307,34	4396,77	4767,99	4964,51	$\hat{Y} = -461,94 + 2730,65X$	0,02	171,58
CDT	67,84	71,20	67,29	67,15	70,69	$\hat{Y} = 68,82$	0,85	1,22
	Proteína Bruta (PB)							
DR	-38,77	23,47	-39,75	58,27	-17,16	$\hat{Y} = 2,21$	0,79	35,62
CDR	-7,41	3,70	-8,67	6,85	-6,65	$\hat{Y} = -1,64$	0,94	4,86
DI	491,71	463,97	575,54	477,85	602,46	$\hat{Y} = 518,00$	0,29	33,29
CDI	66,16	65,20	67,99	59,86	68,68	$\hat{Y} = 65,33$	0,99	2,06
DT	426,04	487,44	510,41	536,13	585,30	$\hat{Y} = -151,90 + 367,20X$	0,02	23,14
CDT	63,48	67,53	65,87	63,27	68,27	$\hat{Y} = 65,68$	0,50	1,09

¹ Tratamento – níveis de consumo de matéria seca em relação ao peso corporal. ²DR - digestão ruminal (g/dia); DI – digestão intestinal (g/dia); DT – digestão total (g/dia); CDR - coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (%); CDI - coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (%); CDT - coeficiente de digestibilidade aparente total (%). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1 Valores negativos obtidos para a DR e CDR da proteína bruta (Tabela 4) são
2 atribuídos a taxa de reciclagem de nutrientes. Na utilização de dietas ricas em
3 concentrado, deve-se atentar para alguns fatores, pois, o uso dessa dieta propicia a
4 redução na atividade química, assim como a produção salivar e pH ruminal. Dessa
5 forma a reciclagem de nutrientes via saliva pode ser diminuída ou prejudicada (Krause
6 et al., 1998). Para o CDT da proteína bruta, os resultados obtidos corroboram com
7 Barbosa et al. (2011), que também não observaram efeito para a CDT da proteína bruta,
8 entretanto, os autores apresentam um CDT da proteína bruta de 66,5%..

9 Sands et al. (2009) sugerem que proteínas, aminoácidos ou ambos, são
10 complexados com fitina e, nesse caso podem ser menos acessíveis a proteólise
11 enzimática durante o trânsito intestinal; e complexos ternários da fitina, cátions e
12 proteínas formadas durante a passagem intestinal poderiam potencialmente enfraquecer
13 a atividade das proteases. A formação do complexo fitina-proteína em alimentos de
14 origem vegetal pode reduzir potencialmente a utilização da proteína da dieta.

15 Os níveis crescentes de consumo de matéria seca, não influíram ($P>0,05$, Tabela
16 5) a DR, CDR, DI e o CDT do extrato etéreo. Para o CDI do extrato etéreo houve
17 resposta quadrática ($P=0,03$) em função do consumo de matéria seca. O ponto crítico
18 estimado para o mínimo CDT foi de 1,8% do peso corporal. Por outro lado, Barbosa et
19 al. (2011), trabalhando com uma razão volumoso:concentrado inferior (60:40),
20 apresentaram para o CDI do EE resposta quadrática em função dos níveis de ingestão, o
21 ponto crítico de máximo observado CDT quando o nível de consumo de matéria seca
22 foi de 1,76% em relação ao PC.

23

1

Tabela 5. Digestão ruminal, intestinal, total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total do extrato etéreo e da fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
Extrato Etéreo (EE)								
DR	26,88	85,41	140,45	98,50	45,33	$\hat{Y} = 76,13$	0,81	20,15
CDR	12,61	35,71	50,78	40,13	19,15	$\hat{Y} = 30,81$	0,85	8,43
DI	134,07	83,36	51,29	87,59	155,81	$\hat{Y} = 105,64$	0,63	19,08
CDI	69,54	50,55	42,08	43,94	71,58	$\hat{Y} = 2490,79 - 2719,49X + 754,53X^2$	0,03	5,63
DT	151,93	168,77	169,52	186,09	201,14	$\hat{Y} = -33,01 + 115,81X$	0,003	8,23
CDT	77,32	78,86	72,26	75,51	79,94	$\hat{Y} = 76,76$	0,39	1,51
Fibra em detergente neutro (FDNcp)								
DR	615,56	543,86	545,59	746,58	682,04	$\hat{Y} = 634,61$	0,23	41,85
CDR	52,37	44,53	37,50	53,54	45,47	$\hat{Y} = 47,26$	0,88	2,73
DI	97,77	207,74	181,31	62,30	187,86	$\hat{Y} = -308370 + 500041X - 291171X^2 + 54144X^3$	0,05	42,15
CDI	13,01	20,26	21,04	6,44	18,10	$\hat{Y} = 16,11$	0,83	4,36
DT	645,81	751,60	710,48	684,27	869,91	$\hat{Y} = -167617 + 284072X - 159430X^2 + 29758X^3$	0,03	46,16
CDT	56,33	61,00	54,81	48,70	58,01	$\hat{Y} = -12360 + 20978X - 11767X^2 + 2191X^3$	0,01	1,85

¹ Tratamento – níveis de consumo de matéria seca em relação ao peso corporal. DR - digestão ruminal (g/dia); DI – digestão intestinal (g/dia); DT – digestão total (g/dia); CDR - coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (%); CDI - coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (%); CDT - coeficiente de digestibilidade aparente total (%). EPM – erro padrão da média dos tratamentos . - = não significativo .

1 A DT do extrato etéreo aumentou linearmente ($P=0,003$, Tabela 5) em resposta
2 aos níveis crescentes de consumo de matéria seca, mostrando que a DI foi diretamente
3 proporcional ao consumo do nutriente. Putrino et al. (2007) avaliando o digestibilidade
4 aparente total do EE, observaram valores superiores para animais com maior consumo
5 do nutriente.

6 A DR, CDR e o CDI da FDN não foram influenciados ($P>0,05$, Tabela 5) pelos
7 níveis de consumo de matéria seca. No entanto, a DI ($P=0,05$), DT ($P=0,03$) e o CDT
8 ($P=0,01$) da FDN tiveram resposta cúbica com o aumento no consumo de matéria seca.
9 Alguns valores negativos obtidos para DI e CDI da FDN, mostram a dificuldade para
10 mensurar a FDN em dietas com alta inclusão de concentrado. Valores de digestibilidade
11 intestinal negativos também foram obtidos por Dias et al. (2000), em dietas com alto
12 teor de concentrado. É esperado que a digestibilidade intestinal da FDN seja zero ou
13 muito próximo disso, quando os valores são altos e positivos ou negativos os resultados
14 devem ser avaliados com cautela, visto que, para mensurar o teor de FDN em dietas
15 ricas em grãos foram encontradas dificuldades.

16 O efeito cúbico obtido para a FDN não pode ser atribuído as influências de
17 parâmetros como pH (Tabela 8) e taxa de passagem (Tabela 9), pois ambas variáveis
18 não foram influenciadas. Krause et al. (1998) encontraram dificuldades para mensurar a
19 digestibilidade da FDN em dietas ricas em concentrado, o que pode estar associado a
20 concentração da FDN nos grãos.

21 É importante ressaltar que quando há uma redução excessiva na fibra da dieta de
22 ruminantes tem efeito prejudicial a digestibilidade total dos alimentos, visto que a fibra
23 é de fundamental importância para manter o rúmen em suas condições ótimas, pelo
24 efeito causado nas proporções de ácidos graxos voláteis (AGV), por estimular a

1 mastigação e mantém o pH em valores adequados para ação microbiana (Mertens,
2 1992).

3 Os carboidratos totais, a DR, CDR, DI, CDI não foram influenciados ($P>0,05$, Tabela
4 6) pelos níveis crescentes de consumo de matéria seca. Dias et al. (2000) em pesquisas
5 com aumento percentual de concentrado na dieta, observaram redução linear para DR
6 dos carboidratos totais, pela possível redução numérica na digestibilidade da FDN. Já
7 para a DT dos carboidratos totais a resposta foi linear ($P=0,002$, Tabela 6),
8 corroborando com os efeitos obtidos por Putrino et al. (2007) os quais obtiveram
9 valores superiores de digestão para os maiores consumo do nutriente. No entanto, o
10 mesmo efeito não foi obtido para o CDT dos carboidratos totais ($P>0,05$, Tabela 6).

11 A DR, CDR, DI, CDI e CDT dos CNF não apresentaram efeito ($P>0,05$, Tabela 6)
12 em função dos níveis de consumo de matéria seca. No entanto, em relação a DT dos
13 CNF respondeu linearmente ($P=0,004$, Tabela 6), ao consumo de matéria seca. A dieta
14 manteve a mesma razão volumoso:concentrado, assim o efeito observado para a DT
15 (g/dia) é atribuído a maior digestão por maiores níveis de consumo do nutriente. Em
16 pesquisas Dias et al. (2000) observaram comportamento linear para a CDT dos CNF, a
17 medida em que a porcentagem de concentrado na dieta aumentou.

18 Os nutrientes digestíveis totais observados, não foram influenciados ($P>0,05$, Tabela
19 6) pelos níveis crescentes de consumo de matéria seca, o que é atribuído ao CDT dos
20 nutrientes (PB, EE, FDNcp e CNF) não apresentaram efeitos ao aumento no consumo.

Tabela 6. Digestão ruminal, intestinal e total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total dos carboidratos totais e carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais.

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
Carboidratos totais (CHOT)								
DR ²	2625,62	3015,10	3649,95	3670,75	3286,05	$\hat{Y} = 3241,45$	0,17	195,31
CDR	52,07	57,33	58,55	60,06	54,00	$\hat{Y} = 56,41$	0,74	2,26
DI	1196,80	921,21	1066,10	761,19	1254,77	$\hat{Y} = 1030,51$	0,97	121,58
CDI	46,55	40,15	42,22	28,69	44,79	$\hat{Y} = 40,05$	0,61	3,66
DT	3540,05	3936,31	4142,21	4431,94	4540,81	$\hat{Y} = -376,62 + 24997,16X$	0,002	154,23
CDT	73,35	75,88	74,27	72,69	75,49	$\hat{Y} = 74,34$	0,89	1,03
Carboidratos não fibrosos (CNF)								
DR	2066,46	2531,09	3181,70	2996,36	2683,42	$\hat{Y} = 2675,69$	0,19	171,59
CDR	53,40	62,84	66,23	63,47	58,57	$\hat{Y} = 60,76$	0,63	2,55
DI	845,32	438,19	542,19	454,45	711,43	$\hat{Y} = 592,19$	0,83	109,20
CDI	42,43	26,33	33,25	22,22	37,76	$\hat{Y} = 31,86$	0,78	5,11
DT	2668,68	2969,28	3085,91	3450,82	3394,85	$\hat{Y} = -367,03 + 1933,86X$	0,04	133,07
CDT	72,26	75,02	71,25	73,56	75,23	$\hat{Y} = 73,47$	0,69	1,57
Nutrientes digestíveis totais ²								
%	70,51	73,84	69,57	69,68	73,62	$\hat{Y} = 71,44$	-	1,12

¹Tratamento – níveis de consumo de matéria seca em relação ao peso corporal. ²DR - digestão ruminal (g/dia); DI – digestão intestinal (g/dia); DT – digestão total (g/dia); CDR - coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (%); CDI - coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (%); CDT - coeficiente de digestibilidade aparente total (%). ²NDT – nutrientes digestíveis totais calculado (Sniffen et al., 1992). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo

1 O desaparecimento e absorção aparente parcial e total de fósforo não
 2 apresentaram efeitos ($P > 0,05$, Tabela 7) em função dos níveis crescentes de consumo,
 3 sugerindo que o tipo de dieta pode influenciar nestas variáveis. A absorção aparente
 4 total do fósforo (46,79 %) foi inferior aos valores citados pelo NRC (2001), que para
 5 concentrados é de 70 % e para volumosos de 64%, e mais próximas a do AFRC (1990)
 6 que considera valores de 50%, ressaltando que estes valores são para absorção
 7 verdadeira de fósforo.

Tabela 7. Desaparecimento ruminal, intestinal, total e absorção aparente ruminal, intestinal e total do fósforo e cálcio em bovinos alimentados com alto teor de concentrado

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
	Fósforo							
DR	-16,65	-15,99	-21,34	-12,35	-17,12	$\hat{Y} = -16,27$	0,77	1,32
AAR	-13,28	-99,59	-127,42	-64,68	-97,10	$\hat{Y} = -97,37$	0,33	9,57
DI	24,11	24,11	30,00	20,23	26,74	$\hat{Y} = 24,63$	0,90	1,42
AAI	75,13	74,82	76,52	63,41	73,51	$\hat{Y} = 72,22$	0,24	1,78
DT	7,19	8,12	7,50	7,89	9,63	$\hat{Y} = 8,06$	0,19	0,49
AAT	48,94	50,71	42,92	41,27	50,13	$\hat{Y} = 46,79$	0,61	1,93
	Cálcio							
DR	-4,52	-2,88	-7,30	-3,52	-4,77	$\hat{Y} = -4,36$	0,89	1,27
AAR	-28,49	-13,15	-41,19	-16,29	-6,45	$\hat{Y} = -19,55$	0,41	6,43
DI	10,29	10,10	13,38	8,25	12,07	$\hat{Y} = 10,61$	0,86	1,42
AAI	43,75	41,59	45,53	38,95	42,70	$\hat{Y} = 42,32$	0,89	3,83
DT	5,35	7,21	5,15	4,71	7,31	$\hat{Y} = 5,95$	0,83	0,90
AAT	29,73	36,89	22,77	21,05	27,97	$\hat{Y} = 27,68$	0,48	3,76

¹ Tratamento – níveis de consumo de matéria seca em relação ao peso corporal. DR - desaparecimento ruminal (g/dia); DI – desaparecimento intestinal (g/dia); DT – desaparecimento total (g/dia); AAR – absorção aparente ruminal (%); AAI – absorção aparente intestinal (%); AAT – absorção aparente total (%). EPM – erro padrão da média dos tratamentos.

8
 9 De acordo com Bravo et al. (2000) o consumo de fósforo é inversamente
 10 proporcional do fluxo salivar de fósforo. Pesquisas têm reportado que para cada 1
 11 grama de fósforo ingerido, há um aumento na excreção fecal de 0,75 gramas, um

1 aumento na excreção endógena de 0,41 gramas, e um aumento na secreção de fósforo
2 salivar de 0,54 g (Shanklin et al., 2001).

3 A maior variação na absorção aparente de fósforo é decorrente do tipo de dieta.
4 Em relação a isso, Araújo et al. (2001), encontraram grande variação para absorção
5 aparente de fósforo (31 a 63%) em bovinos consumindo dietas com níveis crescentes
6 (10, 25, 40, 55 e 90%) de feno de capim-*coastross*, observaram que à medida que o
7 consumo de volumoso aumentou, houve resposta quadrática para a absorção aparente de
8 fósforo e o menor nível de absorção foi relatado pelo maior consumo de volumoso. Em
9 outras pesquisas, Sehested & Weisbjerg (2002), avaliaram a disponibilidade de fósforo
10 pela técnica *in situ* dos sacos de náilon e encontraram valores entre 35 a 95 %, para
11 concentrados, entre 38 e 98%, para seus coprodutos e para as fontes desse mineral a
12 disponibilidade variou entre 29 e 100%.

13 Em estudos recentes com alimentação restrita e programada (2,55% do PC-
14 consumo voluntário; 2,38% do PC- 90 % do consumo voluntário e 2,02% do PC- 80%
15 do consumo voluntário), Clark et al. (2007), quando avaliaram a retenção de nutrientes
16 concluíram que, para o fósforo as estratégias usadas para influenciar a retenção do
17 elemento pela alimentação convencional de bovinos de corte, provavelmente seria mais
18 eficaz com alimentação restrita, por apresentarem valores de retenção de fósforo
19 semelhantes entre os animais com consumo voluntário e restrito em 80% do voluntário.

20 O desaparecimento parcial e total e a absorção aparente parcial e total do cálcio
21 (Tabela 7) não foram influenciados ($P>0,05$) pelos níveis de consumo de matéria seca
22 em relação ao peso corporal. A absorção aparente média de cálcio foi de 27,68%, e estes
23 valores estão abaixo dos adotados pelo NRC (2000) que é de 50%.

24 O ponto crítico estimado para o pH ruminal para máxima acidez não foi
25 influenciado ($P>0,05$) pelos níveis crescentes de consumo de matéria seca (Tabela 8),

1 provavelmente decorrência da manutenção da razão volumoso:concentrado que foi de
2 20:80, e o fornecimento da dieta em duas vezes ao dia. Em média o pH ruminal teve seu
3 ponto crítico estimado a 4,45 horas (4h27min) após a alimentação e pH médio de 6,22.

4 Os valores de pH ruminal obtidos através dos pontos críticos estimados (Tabela
5 8), foram superiores a 6,0 em quase todos os níveis de consumo, exceto para 1,7% do
6 PC, não havendo uma explicação plausível para esse fato. Os resultados mostram que
7 apesar da alta inclusão de concentrado o pH ruminal não interferiu na digestibilidade da
8 matéria orgânica e da FDN.

9 De acordo com Shriver et al. (1986), quando o pH se mantém constante entre 6,2
10 a 7,0 a digestibilidade de nutrientes como matéria orgânica e FDN não são
11 comprometidas, e que abaixo de 6,2 a digestibilidade é reduzida.

Tabela 8. Valores de pH e amônia (NH₃) e dos seus respectivos pontos críticos mensurados no líquido ruminal de bovinos de corte alimentados com dietas alto grão, de zero a 8 horas após a primeira alimentação da manhã

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
	pH							
pH	6,17	5,89	6,24	6,44	6,34	$\hat{Y} = 6,22$	-	0,22
Ponto crítico	4,12	4,47	4,74	4,41	4,51	$\hat{Y} = 4,45$	-	0,28
mínimo ²								
Ponto crítico mínimo ³	04:07	04:28	04:44	04:25	04:31	4:27		
	Amônia (NH ₃)							
Máxima [mg/dL]	23,44	25,03	21,93	27,51	21,96	$\hat{Y} = 23,97$	-	3,27
Ponto crítico máximo ⁴	1,64	1,69	1,87	1,87	1,64	$\hat{Y} = 1,74$	-	0,15
Ponto crítico máximo ⁵	01:38	01:42	01:52	01:52	01:38	01:44		
Mínima [mg/dL]	1,17	1,35	2,59	8,88	2,17	$\hat{Y} = 3,23$	-	3,29
Ponto crítico mínimo ²	6,67	6,61	6,93	6,66	6,62	$\hat{Y} = 6,70$	0,25	0,11
Ponto crítico mínimo ³	6:40	6:37	6:56	6:40	6:37	6:42		

¹Tratamentos- consumo de matéria seca como percentagem do peso corporal dos animais. ²Ponto crítico –valores absolutos – ponto de mínimo para pH (máxima acidez) e concentração de amônia (menor concentração), mensurados de zero até oito horas após a primeira alimentação. ³Ponto crítico de mínimo – convertido em horas e minutos. ⁴Ponto crítico – valor absoluto- ponto de máximo para concentração de amônia no fluido ruminal, mensurado de zero até oito horas após a primeira alimentação. ⁵Ponto crítico – convertido em horas e minutos. EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1 Os animais que consumiram 1,6% de matéria seca em relação ao PC atingiram os
2 níveis críticos, em menor tempo, o que pode ser explicado pela menor quantidade de
3 alimento fornecido (g/dia) levando ao consumo imediato de alimento, em até uma hora
4 após o fornecimento.

5 Em estudos semelhantes Murphy et al. (1994), mostraram que o pH ruminal de
6 bovinos alimentados de forma restrita e alto concentrado não apresentaram diferenças
7 daqueles alimentados *ad libitum*.

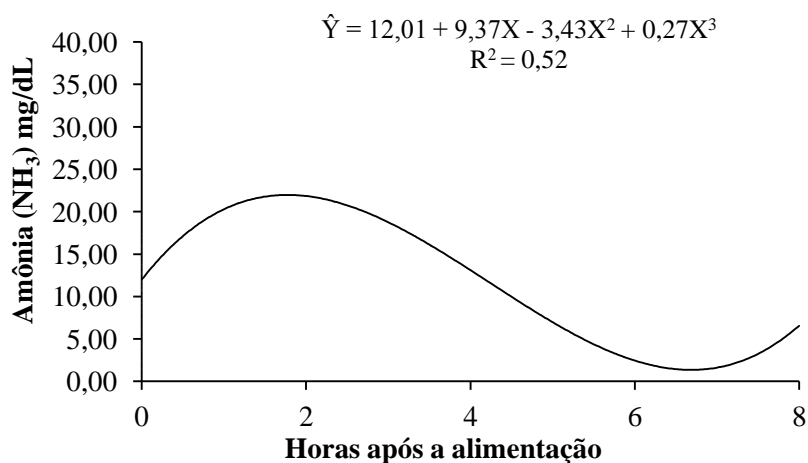
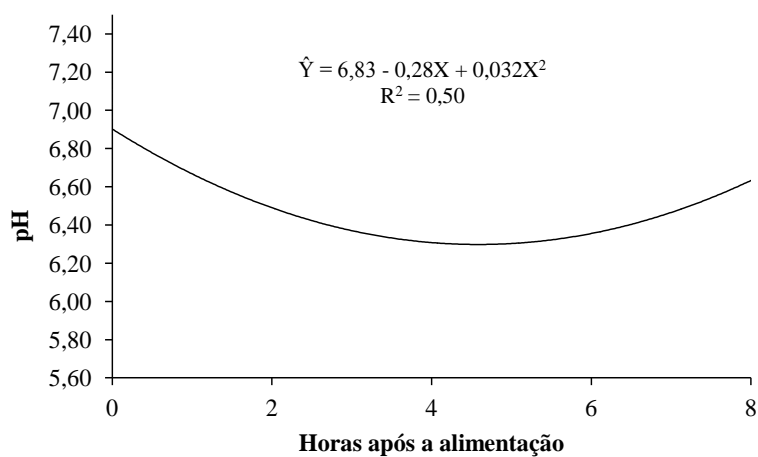
8 Os níveis crescentes de consumo de matéria seca, não influenciaram ($P>0,05$) a
9 concentração de amônia no fluido ruminal (Tabela 8). A concentração média para
10 máxima de produção de amônia no fluido ruminal foi de 23,27 mg/dL, ajustada pelo
11 modelo e o ponto crítico médio de 1,74 horas (01h44min) após a alimentação. Estes
12 valores estão acima dos citados por Satter & Styler (1974), que consideraram que
13 valores de 50 mg de N-NH₃/L (5 mg de N-NH₃/dL), serem suficientes para manter o
14 máximo crescimento microbiano, e que acima disso não há vantagem alguma da adição
15 de fontes de nitrogênio não proteico na dieta.

16 O consumo de matéria seca não influenciou ($P>0,05$) a concentração mínima de
17 amônia no fluido ruminal em função dos tratamentos, e a concentração mínima foi de
18 3,23 mg de amônia/dL com ponto crítico estimado em 6,7 horas (06h42min), mas deve-
19 se ressaltar que muito próximo disso os animais seriam alimentados novamente. De
20 acordo com Satter & Styler (1974) a concentração exata de limitação talvez seja
21 aproximadamente de 20 mg de N-NH₃/L (2 mg/dL).

22 Para o pH e a concentração amônia medidos no líquido ruminal de zero a 8 horas
23 após a alimentação, não houve efeito ($P>0,05$) de tratamento, indicando que
24 independente do tratamento houve a mesma resposta para ambos os parâmetros, o que
25 reforça os resultados obtidos para o pH mínimo e concentração de amônia (Tabela 8).

1 Entretanto, o pH teve resposta quadrática ($P < 0,05$, Figura 3) a medida que aumentaram
 2 as horas após a alimentação e, a concentração de amônia teve efeito cúbico ($P < 0,05$,
 3 Figura 3).

4



5 Figura 3. Variação do pH e da amônia do líquido ruminal de bovinos alimentados com
 6 diferentes níveis de consumo de matéria seca, durante o período de zero a 8
 7 horas após a alimentação.

8

9

10 O volume ruminal expresso em litros (L) e em porcentagem do peso corporal (%)

11 PC), não foi influenciado ($P > 0,05$, Tabela 9) pelo consumo de matéria seca. O volume

1 ruminal total em bovinos corresponde a valores entre 15 a 21% do peso corporal
2 (Owens & Goetsch, 1988). Os valores obtidos estão abaixo dos citados por Owens &
3 Goetsch (1988) e acima dos obtidos por Mendes et al. (2006), que avaliando bovinos
4 mestiços alimentados com uma razão volumoso:concentrado de 60:40, obtiveram
5 volume ruminal de 8,45; 7,71 e 7,82% em relação ao peso corporal. Os autores
6 atribuem os valores apresentados a dificuldade de homogeneização instantânea do
7 indicador (Co-EDTA), o que subestimou o volume ruminal, o que não é atribuído a esse
8 estudo. Colucci et al. (1990) observaram que animais alimentados com dietas ricas em
9 concentrado possuem menores valores para o volume ruminal.

10 Não foi obtido efeito ($P>0,05$) do consumo de matéria seca sobre taxa de
11 passagem (%/h) (Tabela 9), demonstrando que, a amplitude entre os níveis de ingestão
12 não foi suficiente para provocar efeito na taxa de passagem da fase líquida. Em
13 pesquisas com consumo restrito, Montgomery et al. (2004) quando compararam
14 consumo voluntário com restrito por bovinos recebendo dietas à base de milho
15 floculado ou glúten de milho úmido, encontraram maiores valores para a taxa de
16 passagem em animais com consumo voluntário.

17

1

Tabela 9. Volume ruminal e parâmetros da cinética ruminal

Parâmetros ²	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
VR (L)	38,66	38,11	38,88	41,49	40,41	$\hat{Y} = 39,51$	-	2,03
VR (% PC)	10,21	10,29	10,25	10,82	10,78	$\hat{Y} = 10,47$	-	0,53
Kpl	7,23	7,85	8,33	8,05	8,30	$\hat{Y} = 7,95$	-	0,62
Tp Retenção	15,01	12,88	12,22	12,72	12,54	$\hat{Y} = 13,07$	0,42	1,08
Tx Fluxo	2,56	2,97	3,18	3,30	3,37	$\hat{Y} = - 0,40 + 1,29X$	0,01	0,21
Tx Rec.	1,73	1,88	2,00	1,93	1,99	$\hat{Y} = 1,91$	-	0,15

¹Tratamentos- consumo de matéria seca como porcentagem do peso corporal dos animais. ²Parâmetros - VR (L) = Volume ruminal em litros; VR (% PC) = volume ruminal % do peso corporal; Kpl (fase líquida) = Taxa de passagem da fase líquida (%/h); Tp Retenção = Tempo de Retenção (h); TX Fluxo = Taxa de fluxo de líquidos (L/h); Tx Rec.= Taxa de reciclagem (vezes/dia). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo

2

3 A taxa de fluxo (L/h) aumentou linearmente ($P < 0,01$, Tabela 9) em resposta aos
4 níveis crescentes de consumo de matéria seca, e de acordo com Evans (1981) a taxa de
5 reciclagem é elevada em resposta ao acréscimo no consumo.

6 O consumo de matéria seca, não influenciou ($P > 0,05$) o volume urinário, a
7 concentração de alantoína na urina (mmol/dia), os derivativos de purina (mmol/dia), a
8 purinas absorvidas (mmol/dia), o nitrogênio microbiano (g de N/dia), a proteína bruta
9 microbiana (g/dia) e a eficiência de síntese de proteína microbiana (g de PB
10 microbiana/kg de NDT consumido, Tabela 10).

11 De acordo com Cecava et al. (1990) e Hoover & Stokes (1991), a síntese de
12 proteína microbiana esta relacionada com a matéria seca consumida e com a matéria
13 orgânica digerida no rúmen, em sincronia com a eficiência que os microrganismos
14 utilizam a energia, um dos fatores limitantes para o crescimento microbiano.

15

1

Tabela 10. Parâmetros urinários e de eficiência de síntese de proteína microbiana

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
VU ²	18,47	14,80	18,56	16,92	17,38	$\hat{Y} = 17,23$	-	1,88
ALA	101,53	98,35	105,43	125,46	103,02	$\hat{Y} = 106,76$	0,27	8,92
AcU	6,89	5,84	9,68	9,86	7,47	$\hat{Y} = 3436 - 5846X + 3308X^2 - 621X^3$	0,04	1,04
DP	111,95	104,19	115,12	135,32	110,50	$\hat{Y} = 115,41$	0,27	9,76
Pabs	112,78	107,63	120,27	144,00	114,78	$\hat{Y} = 119,89$	0,25	11,41
N mic	81,99	78,25	87,44	104,69	83,44	$\hat{Y} = 87,16$	0,25	8,29
PB mic	512,46	489,04	546,49	654,31	521,53	$\hat{Y} = 544,76$	0,25	51,83
Eficiência	122,99	106,16	114,75	122,96	99,07	$\hat{Y} = 113,19$	-	11,61

¹Tratamentos- consumo de matéria seca como percentagem do peso corporal dos animais. ² VU – volume urinário (L/dia); ALA – alantoína mmol/dia; AcU – ácido úrico (mmol/dia); DP – derivativos purina (mmol/dia); Pabs – purinas absorvidas (mmol/dia); N mic – nitrogênio microbiano (g/dia); PB mic – proteína bruta microbiana (g/dia); Efic. – eficiência de síntese de proteína microbiana (g PB microbiana/kg de NDT consumido). EPM – erro padrão da média dos tratamentos . - = não significativo.

1 A concentração de ácido úrico na urina respondeu de forma cúbica ($P=0,04$,
2 Tabela 10), ao aumento no nível de consumo de matéria seca (Tabela 10). Rennó et al.
3 (2000) agrupou informações de vários experimentos em função dos níveis de
4 concentrado na dieta e, não reportaram efeito por para esse parâmetro a medida que os
5 níveis de concentrado foram aumentados.

6 As concentrações séricas de ureia, nitrogênio ureico e cálcio (Tabela 11) não
7 foram influenciados ($P>0,05$) pelos níveis crescentes de consumo.

8 Efeito cúbico ($P<0,01$, Tabela 11) foi obtido para a concentração de fósforo
9 inorgânico no soro sanguíneo, em resposta aos níveis crescentes de consumo de matéria
10 seca. Esse efeito não é justificado pela absorção aparente do fósforo (Tabela 7), uma
11 vez que a mesma não foi influenciada pelo consumo de matéria seca. De acordo com
12 Challa et al. (1989), a absorção aumenta em uma relação direta com o consumo e a
13 eficiência de absorção decresce nos altos níveis de ingestão de fósforo, o que no
14 presente estudo não foi observado.

15 Em todos os tratamentos, os animais mantiveram suas concentrações séricas
16 muito próximas, e acima de condições limítrofes de deficiência, os quais geralmente
17 oscilam entre 4 e 9 mg/dL, indicando perfeita saúde (Underwood, 1981; Maynard et. al,
18 1984). De acordo com Kincaid et al. (1993) e Block et al. (2004), os níveis normais de
19 fósforo são 6 a 8 mg/dL em animais jovens e quando atingem a idade a maturidade
20 entre 4 a 5 anos estas concentrações são declinadas a 4,5 a 6 mg/dL. Em estudos
21 recentes Borges (2008) trabalhando com ovinos com três níveis de suplementação de P
22 (1,9 g/dia, 2,6 g/dia e 3,3 g/dia) obteve níveis de fósforo plasmático entre 5,99 e 7,58
23 mg/dL, demonstrando que em baixos níveis de inclusão do mineral os teores de P
24 plasmático permaneceram em uma faixa ótima do elemento no plasma, com correlação
25 positiva com os níveis de inclusão.

Tabela 11. Concentrações séricas de ureia, nitrogênio ureico, fósforo inorgânico e cálcio de bovinos consumindo níveis crescentes de matéria seca

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0			
Ureia (mg/dL) ²	23,83	27,50	29,26	22,25	27,51	$\hat{Y} = 26,07$	0,21	2,22
N-ureico (mg/dL)	11,11	12,81	13,64	10,37	12,82	$\hat{Y} = 12,15$	0,21	1,03
P (mg/dL) ²	7,46	7,24	7,30	6,18	7,88	$\hat{Y} = -1153 + 1982X - 1124X^2 + 212X^3$	0,01	0,28
P (mmol/L)	2,41	2,34	2,36	2,00	2,55	$\hat{Y} = -372 + 640X - 363X^2 + 68,37X^3$	0,01	0,09
Ca (mg/dL)	8,86	8,78	8,86	8,70	9,00	$\hat{Y} = 8,84$	-	8,84
Ca (mmol/L)	2,22	2,20	2,22	2,18	2,25	$\hat{Y} = 2,21$	-	0,05

¹Tratamentos- consumo de matéria seca como porcentagem do peso corporal dos animais. ²Ureia plasmática; nitrogênio-ureico = nitrogênio-ureico plasmático, P = fósforo; Ca = cálcio. EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1

Conclusões

2

3 Animais com consumo restrito, recebendo dietas ricas em grãos mantêm
4 parâmetros como pH ruminal e a concentração de amônia do fluido ruminal dentro de
5 valores ideais, para fermentação e crescimento microbiano. Os níveis crescentes de
6 consumo não influenciam a digestibilidade aparente da matéria e dos demais nutrientes,
7 absorção aparente de fósforo e de cálcio, parâmetros de cinética ruminal, eficiência de
8 síntese de proteína microbiana e as concentrações séricas de ureia, nitrogênio e cálcio.

9

Referências

- 1
2
3 AGRICULTURAL AND FOOF RESEARCH COUNCIL – AFRC. Technical
4 Committee on Responses to Nutrients, Report n.6, A Reappraisal of the Calcium and
5 Phosphorus Requirements of Sheep and Cattle. Nutrition Abstracts and Reviews,
6 Series B: Livestock Feeds and Feeding, v. 61:, p.573-612, 1990.
- 7 ARAÚJO, G.G.L.; SILVA, J.F.C.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo e
8 absorção aparente de macroelementos minerais, em bezerros alimentados com dietas
9 contendo diferentes níveis de volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30,
10 p.1824-1828, 2001.
- 11 ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official**
12 **Methods of Analysis**. 15 ed. Arlington, V.A., 1990.
- 13 BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Efeito do
14 período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a
15 excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana
16 em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.870-877, 2006.
- 17 BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al.
18 Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by
19 different methods in Nelore cattle. **Journal Animal Science**, v.89, p.510-519,
20 2011.
- 21 BLOCK, H.C.; ERICKSON, G.E.; KLOPFENSTEIN, J. Re-evaluation of phosphorus
22 requirements and phosphorus retention of feedlot cattle. A review. **Professional**
23 **Animal Scientist**, v.20, p. 319-329, 2004.
- 24 BORGES, E.E.S.; SILVA FILHO, J.C.; ROQUE, N.C. et al. Dinâmica do fósforo em
25 ovinos alimentados com dietas contendo diversos níveis deste mineral. **Revista**
26 **Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1679-1684, 2008.
- 27 BRAVO, D.; MESCHY, F.; BOGAERT, C. et al. Ruminant phosphorus availability
28 from several feedstuffs measured by the nylon bag technique. **Reproduction**
29 **Nutrition Development**, v.40, p.149-162, 2000.
- 30 CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C. et al. Composition of ruminal bacteria
31 harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and
32 isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2480-2488, 1990.
- 33 CHALLA, J.; BRAITHWAITE, G.D.; DHA NOA, M. S. Phosphorus homeostasis in
34 growing calves. **Journal of Agricultural Science**, v.112, n.2, p.217-226, 1989.
- 35 CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle
36 based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details.
37 **Bucksburnd: Rowett Research Institute**, 1992. 21p (Occasional publication).
- 38 CHEN, X.B.; ØRSKOV, E.R. 2004. Research on urinary excretion of purine derivatives
39 in ruminants: past, present and future. Disponível
40 em:<:www.macauley.ac.uk/IFRU/pdf>. Acesso em: 01/10/2010.
- 41 CLARK, J.H.; OLSON, K.C.; SCHMIDT, T.B. et al. Effects of dry matter intake
42 restriction on diet digestion, energy partitioning, phosphorus retention, and ruminal
43 fermentation by beef steers. **Journal of Animal Science**, v.85, p.3383-3390, 2007.
- 44 COLUCCI, P. E.; CHASE, L.E.;VAN SOEST, J. Feed intake, apparent diet
45 digestibility, and rate of particulate passage in dairy cattle. **Journal of Dairy**
46 **Science**, v.65, p.1445. 1982.
- 47 COLUCCI, P. E.; MACLEOD, G. K.; GROVUM, W. L. et al. Digesta kinetics in sheep
48 and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low
49 intakes. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.8, p.2143-2156, 1990.

- 1 COLUCCI, P.E. **Comparative digestion and digesta kinetics in sheep and cattle.**
2 Guelph:University of Guelph, 1984, 221p. Thesis (Ph.D. Thesis Animal Science) -
3 University of Guelph, 1984.
- 4 DIAS, M.F.; CECON, P.R.; LEÃO, M.I. et al. Consumo e digestões totais e parciais em
5 novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de
6 concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.545-554, 2000.
- 7 EVANS, E. An evaluation of the relationships between dietary parameters and rumen
8 liquid turnover rate. **Canadian Journal of Animal Science**, v.61, n.1, p.91-96,
9 1981.
- 10 FISKE, C. H., SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus.
11 **Journal of Biological Chemistry**, v.66, p.375, 1925.
- 12 GALYEAN, M.L. Review: Restricted and programmed feeding of beef cattle –
13 definitions, application and results. **The Professional Animal Scientist**, v.15, p.1-6,
14 1999.
- 15 GALYEAN, M.L.; WAGNER, D.G.; OWENS, F.N. Level of feed intake and site extent
16 of digestion of high concentrate diets by steers. **Journal of Animal Science**, v.49,
17 p.199-203, 1979.
- 18 GEISERT, B.G.; ERICKSON, G.E.; KLOPFENSTEIN, T.J. et al. Phosphorus
19 requirement and excretion of finishing beef cattle fed different concentrations of
20 phosphorus. **Journal Animal Science**, v.88, p.2393-2402, 2010.
- 21 HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum
22 rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3630-3644, 1991.
- 23 KINCAID, R. Macro elements for ruminants. In *The Ruminant Animal: Digestive*
24 *Physiology and Nutrition*. D. C. Church (Ed.). Waveland Press, Inc., IL. 1993.
- 25 KRAUSE, M.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. et al. Fibrolytic enzyme treatment
26 of barley grain and source of forage in high-grain diets fed to growing cattle.
27 **Journal Animal Science**, v.76, p.2912-2920, 1998.
- 28 LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N. et al. Consumos e
29 digestibilidades totais e parciais de carboidratos totais, fibra em detergente neutro e
30 carboidratos não fibrosos em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas
31 metodologias de coletas de digesta abomasal e omasal. **Revista Brasileira de**
32 **Zootecnia**, v.34, p.670-678, 2005.
- 33 LITTLE, D.A., ROBINSON, P. J., PLAYNE, M.J., HAYCOCK, K. P. Factors affecting
34 blood inorganic phosphorus in cattle. **Australian Veterinary Journal**, v.47, p.153,
35 1971.
- 36 LOUVANDINI, H.; VITTI, D.M.S.S.; ABDALLA, A.L.; MCMANUS, C.M.
37 Phosphorus kinetics in growing hair sheep. **Small Ruminant Research**, v.76,
38 p.183-189, 2008.
- 39 MAENG, W.J.; BALDWIN, R.L. Dynamics of fermentation of purified diet and
40 microbial growth in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.4, p.636-642,
41 1976.
- 42 MAYNARD, L.A.; LOOSLI, J.K.; HINTZ, H.F.; WARNER, R.G. **Nutrição Animal.**
43 Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 3ª edição, 1984. 726 p.
- 44 MENDES, A.R.; EZEQUIEL, J.M.; GALATI, R.L. et al. Cinética digestiva e eficiência
45 de síntese de proteína microbiana em novilhos alimentados com farelo de girassol e
46 diferentes fontes energéticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.264-274,
47 2006.
- 48 MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação e formulação de rações.
49 In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29,
50 1992, Lavras, **Anais...** Lavras: SBZ, 1992, p.188-219.

- 1 MONTGOMERY, S.P.; DROUILLARD, J.S.; TITGEMEYER, E.C. Effects of wet
2 corn gluten feed and intake level on diet digestibility and ruminal passage rate in
3 steers. **Journal of Animal Science**, v.82, p.3526-3536, 2004.
- 4 MURPHY, T.A.; LOERCH, S.C.; DEHORITY, B.A. The influence of restricted
5 feeding on site and extent of digestion and flow of nitrogenous compounds to the
6 duodenum in steers. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2487-2496, 1994.
- 7 MYERS, W.D., LUDDEN, P.A., NAYIGIHUGU, V., HESS, B.W., Technical Note: a
8 procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium
9 dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.
- 10 NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**.
11 Vol, 7 Edition. The National Academy Press, Washington, D.C. 2000. 249 p.
- 12 NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**.
13 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 405p
- 14 OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Fermentación ruminal. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **El**
15 **rumiante: fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, p.159-190, 1988.
- 16 PUTRINO, S.M.; LEME, P.R.; LUZ E SILVA, S. Digestibilidade aparente de dietas
17 com níveis crescentes de concentrado em novilhos Brangus e Nelore. **Arquivo**
18 **Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, p.406-413, 2007.
- 19 RAHNEMA, S.H.; THEURER, B.; GARCIA, J.A. Site of protein digestion in steers fed
20 sorghum grain diets. I Effect of level of feed intake. **Journal of Animal Science**,
21 v.64, p.1533-1540, 1987.
- 22 RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de
23 proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista**
24 **Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1223-1234, 2000.
- 25 SANDS, J.S.; RAGLAND, D.; DILGER, R.N.; ADEOLA, O. Responses of pigs to
26 *Aspergillus niger* phytase supplementation of low-protein or high-phytin diets.
27 **Journal Animal Science**, v.87, p.2581-2589, 2009.
- 28 SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial
29 production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- 30 SCHMIDT, T.B.; OLSON, K.C.; LINVILLE, M.L. et al. Effects of dry matter intake
31 restriction on growth performance and carcass merit of finishing steers. **The**
32 **Professional Animal Scientist**, v.21, p.332-338, 2005.
- 33 SEHESTED, J.; WEISBJERG, M.R. Release of phosphorus from feedstuffs for cattle.
34 **Journal Animal Science**, v. 80 (Suppl. 1):364. (Abs.), 2002.
- 35 SHANKLIN, R.K. **Effect of form and amount of phosphorus and phytase**
36 **supplementation on phosphorus utilization by ruminants**. 2001. 94f. Dissertação
37 [Mestrado em Animal e Poultry Sciences] - Faculdade do Instituto Politécnico
38 Virginia e Universidade Estadual. (Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and
39 State University, Blacksburg –Virginia.
- 40 SHRIVER, B.J.; HOOVER, W.H.; SARGENT, J.P. et al. Fermentation of a high
41 concentrate diet as affected by ruminal pH and digesta flow. **Journal of Dairy**
42 **Science**, v.69, p.413-419, 1986.
- 43 SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.J.; RUSSEL; J.B. A
44 net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and
45 protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.
- 46 UDEN, P., COLUCCI, P. E.; VAN SOEST P. J. Investigation of chromium, cerium
47 and cobalt as markers in digesta rate of passage studies: Domestic animals fed
48 timothy hay. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.31, p.625-632,
49 1980.

- 1 UNDERWOOD, E.J. **The mineral nutrition of livestock**. Farnham Royal: CAB, 3^a
2 ed., 1981. 180p.
- 3 VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B.A. Symposium: Methods for
4 dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to
5 animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 3583, 1991.
- 6 VASCONCELOS, J.T.; COLE, N.A.; MCBRIDE, K.W. et al. Effects of dietary crude
7 protein and supplemental urea levels on nitrogen and phosphorus utilization by
8 feedlot cattle. **Journal Animal Science**, v.87, p. 1174-1183, 2009.
- 9 VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações**
10 **para ruminantes**. Viçosa, MG: UFV, 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) –
11 Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- 12 WEISS, W. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL
13 NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, Ithaca.
14 **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p.176-185. 1999.
- 15 ZINN, R.A.; OWENS, F.N. Influence of feed intake level on site of digestion in steers
16 fed a high concentrate diet. **Journal of Animal Science**, v.56, p.471-475, 1983.
17

1 **Introdução**

2 A maior parte do fósforo presente nos vegetais está na forma de fitato, mio-
3 inositol hexaquifosfato ou IP6 (Hu et al., 1996; Harland & Morris, 1995). As formas
4 orgânicas do fósforo incluem o fósforo fítico que representa de 50 a 70% e
5 fosfolipídeos, fosfoproteínas e ácidos nucleicos que representam 20 a 30%, restando
6 ainda de 8 a 12% de formas inorgânicas (Bravo et al., 2003).

7 Em estudos com silagem de milho, Clark et al. (1986) obtiveram antes da
8 ensilagem valores de fósforo fítico de 13%, e após o processo de ensilagem a
9 concentração reduziu a 0,0012%. A redução foi atribuída aos microrganismos que
10 fermentam o material ensilado produzindo fitase e outras enzimas que clivam o fósforo
11 fítico convertendo em fósforo inorgânico.

12 A fitase é encontrada naturalmente em plantas e sintetizada por fungos,
13 protozoários e bactérias, não sendo sintetizada por animais (Hurley et al., 2002). Alguns
14 alimentos apresentam alta atividade de fitase endógena, outros alimentos como milho,
15 aveia, sorgo e oleaginosas apresentam baixa ou nenhuma atividade enzimática (Pereira,
16 2010). A enzima hidrolisa o fitato a inositol e fosfato inorgânico (Wyss et al., 1999;
17 Ullah & Sethumadhavan, 2003).

18 A adição de fitase em dietas de monogástricos é uma prática crescente, uma vez
19 que aumenta o potencial de utilização do fósforo fítico e reduz a poluição ambiental.
20 Para ruminantes as exigências e práticas de utilização de fitase são menores, em virtude
21 dos microrganismos ruminais sintetizarem a enzima.

22 Hurley et al. (2002) trabalhando com adição de fitase para bovinos de corte
23 verificaram que níveis entre 400 a 500 FTU/kg de ração aumentaram a digestibilidade
24 aparente de fósforo, cálcio e magnésio. Os autores sugerem que os ruminantes podem
25 não ser tão eficientes no aproveitamento do fósforo fítico.

1 Bravo et al. (2002) avaliaram o uso de fitase para ruminantes e não obtiveram
2 efeito quando o concentrado foi suplementado com fitase fúngica. Em contraste, no
3 mesmo estudo verificaram que a concentração de 2000 FTU de fitase fúngica/kg em
4 dietas para cabras, melhorou a solubilização ruminal do farelo de soja e do farelo de
5 canola tratados com formaldeído. Na mesma linha de pesquisa Bravo et al. (2003),
6 descrevem aumentos na disponibilidade do fósforo do farelo de soja e de girassol na
7 ração de ovinos.

8 O uso de fitase em dietas de animais de produção é considerado uma prática
9 importante para melhorar a disponibilidade de fósforo oriundo de fontes orgânicas,
10 redução nos custos com suplementação de fontes inorgânicas, e em áreas de
11 preocupação ambiental, a fitase é eficiente na redução da sobrecarga de fosfato ao meio
12 ambiente (Ullah & Sethumadhavan, 2003).

13 Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência de utilização da
14 enzima fitase Natuphos® em dietas alto grão para bovinos de corte, sobre os parâmetros
15 de fermentação e cinética ruminal, a digestibilidade dos nutrientes, a absorção de
16 fósforo e cálcio, a eficiência de síntese microbiana e concentrações séricas de ureia,
17 nitrogênio ureico, fósforo inorgânico e cálcio.

18

19

Material e Métodos

20 O experimento foi conduzido no setor de Avaliação de Alimentos para Animais
21 Ruminantes da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) e no Laboratório de Análises
22 de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), ambos pertencentes a Universidade Estadual
23 de Maringá, durante o período de outubro de 2009 a março 2011.

24 Foram utilizados cinco bovinos machos castrados, anelorados, com 18 meses de
25 idade, com peso vivo médio de 318 ± 45 kg, providos de cânula ruminal. O

1 delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 5 x 5. Os animais
2 permaneceram em uma instalação totalmente coberta com piso de concreto, em baias
3 individuais com 8,75 m² (2,5 x 3,5 m). Todas as baias continham comedouro de
4 polietileno individual e bebedouro automático. Foi mantido um manejo higiênico
5 sanitário adequado das instalações. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia,
6 pela manhã as 08 horas e a tarde as 16 horas.

7 Todos os animais foram alimentados com a mesma dieta, diferindo apenas nas
8 concentrações de unidades de fitase (FTU), como segue: 1) Controle – Sem fitase (0
9 FTU); 2) 300 FTU/kg ração; 3) 600 FTU/kg ração; 4) 900 FTU/kg ração e 5) 1200
10 FTU/kg ração. A dieta foi isenta de qualquer fonte suplementar de fósforo inorgânico e
11 ração volumoso: concentrado foi mantida em 20:80.

12 A fitase utilizada no experimento foi a Natuphos® 10000G (phytase, mio-inositol
13 hexakifosfato β-fosfohidrolase (EC 3.1.3.8), 3-fitase, produzida pelo *Aspergillus niger*,
14 e a atividade é de 10000 FTU/g). Uma unidade de fitase é definida como a quantidade
15 de enzima necessária para liberar 1 μmol de fósforo inorgânico/minuto, em uma solução
16 de 0,0051mol/L de fitato de sódio em pH 5,5 e 37 °C. Para homogeneizar a fitase na
17 ração total, esta foi previamente misturada a 5 kg de milho moído e posteriormente foi
18 adicionada a mistura total do concentrado.

19 Os animais foram pesados no início de cada período experimental com o objetivo
20 de ajustar o fornecimento da dieta, que foi oferecida em 2,4% do peso corporal (PC)
21 com base na matéria seca. Os períodos experimentais tiveram duração de 21 dias, sendo
22 os últimos sete dias destinados a coleta de amostras (14° ao 21° dia).

23 Para determinação do fluxo omasal e da produção fecal todos os animais
24 receberam uma dose diária de 10 g de dióxido de titânio (TiO₂) diretamente no rúmen, a
25 partir do 7° dia de cada período experimental.

Tabela 12. Composição percentual e química dos nutrientes da ração experimentais com base na matéria seca

Ingredientes	%	Composição química									
		MS	PB	FDN _{cp}	FDA	EE	CHOT	CNF	P	Ca	NDT ²
Dieta Total	100,00	77,46	13,50	20,73	9,88	3,25	81,28	60,48	0,31	0,40	78,80
Silagem de Milho	20,00	25,98	6,30	53,40	33,04	2,46	88,31	35,00	0,18	0,14	65,60
Milho moído	65,34	89,86	8,53	11,49	3,25	3,80	86,42	74,80	0,26	0,03	88,70
Farelo de Soja	6,67	91,26	50,32	12,41	9,23	1,73	41,69	29,37	0,73	0,35	88,00
Farelo de Trigo	5,24	91,27	17,94	35,97	11,41	2,38	74,54	38,54	1,18	0,09	72,00
Calcário	1,10	99,00								34,00	
Ureia (eq. proteico)	1,00	99,00	281,00								
Cloreto de Sódio	0,09	99,00									
Filtrado de Enxofre	0,05	99,00									
Premix ¹	0,50	99,00									

¹Composição premix, isento de fósforo - Iodo – 140,3 ppm; Zinco – 8000,33 ppm; lasalocida - 0,44%; Selênio - 40,05 ppm; Cobalto – 60 ppm; Cobre – 3000 ppm; Manganês – 6000,1 ppm. ² Valores estimados pelo NRC (2000). MS – matéria seca; PB – proteína bruta; FDN_{cp} – fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA – fibra em detergente ácido; CHOT – carboidratos totais; CNF – carboidratos não fibrosos; P – fósforo; Ca – cálcio; NDT – nutrientes digestíveis totais.

1 Com o objetivo de determinar a digestibilidade parcial e total da matéria seca
2 (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), da fibra em detergente neutro
3 (FDN), dos carboidratos totais (CHOT), dos carboidratos não fibrosos (CNF), e o
4 desaparecimento parcial e total e absorção de fósforo (P) e cálcio (Ca) foram colhidas
5 amostras de digesta omasal (~500 mL) por meio do orifício retículo omasal, e de fezes
6 (~200 g).

7 As amostras de digesta omasal e de fezes foram colhidas a partir do 14^o dia, por
8 um período total de seis dias, em diferentes horários (7; 10; 13; 16; 19; e 22 horas),
9 totalizando seis amostras de digesta omasal e seis amostras de fezes por
10 animal/tratamento/período. A coleta de digesta omasal foi realizada por sucção,
11 segundo técnica descrita por Leão et al. (2005). As fezes foram coletadas diretamente
12 no reto.

13 As amostras de digesta omasal e de fezes foram acondicionadas em sacos
14 plásticos, devidamente identificados e congelados (-20° C) para posterior processamento
15 e análises. Posteriormente as amostras de digesta omasal e de fezes foram
16 descongeladas, pré-secas em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C por 72 horas e
17 moídas individualmente em moinhos tipo Willey, utilizando peneira com crivos de 1
18 mm. Em seguida as amostras foram misturadas com base no percentual do peso seco,
19 para formar amostras compostas de digesta omasal e fezes por
20 animal/tratamento/período.

21 As sobras de alimento no comedouro foram colhidas diariamente, pesadas e
22 amostradas, sendo, então, congeladas. Posteriormente estas amostras foram processadas
23 da mesma forma que foi descrito anteriormente para as amostras de digesta omasal e de
24 fezes. As amostras de volumoso e do concentrado foram realizadas, quinzenalmente e,
25 misturadas em amostras compostas, para cada período experimental.

1 As amostras dos alimentos utilizados nas dietas experimentais, das sobras, de
2 digesta omasal e de fezes foram analisadas para teores de MS, MO, PB, EE e Ca
3 (AOAC, 1990), FDN (Van Soest et al., 1991), P (Fiske & Subbarow, 1925). Os
4 carboidratos totais (CHOT) foi obtido pela equação de Sniffen et al. (1992). As
5 amostras de digesta omasal e de fezes foram analisadas para titânio segundo Myers et
6 al. (2004).

7 A porcentagem de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculada segundo a
8 equação descrita por Sniffen et al. (1992):

$$9 \quad NDT = PBD + FDND + CNFD + (EED \times 2,25)$$

10 em que: NDT = nutrientes digestíveis totais; PBD = proteína bruta digestível; FDND =
11 fibra em detergente neutro digestível; CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis e
12 EED = extrato etéreo digestível.

13 Os CNF foram calculados segundo NRC (2001):

$$14 \quad CNF_{cp} = 100 - (\%FDN_{cp} + \%PB + \%EE + \%MM)$$

15 sendo: CNF_{cp} = carboidratos não-fibrosos, corrigido para cinzas e proteína; MM =
16 matéria mineral, as demais abreviações foram citadas acima.

17 No 14º e no 17º dia de cada período experimental, foram coletadas amostras
18 “spot” de urina aproximadamente 4h após a alimentação, durante a micção espontânea.
19 Imediatamente após cada coleta, as amostras foram homogeneizadas, filtradas e
20 alíquotas de 15 mL de urina foram diluídas em 135 mL de H₂SO₄ a 0,036 N (1:9). Após
21 serem diluídas e acidificadas, foi medido o pH de cada amostra e realizado ajuste para
22 valores inferiores a 3, evitando assim a destruição bacteriana dos derivados de purinas e
23 precipitação do ácido úrico. Em seguida, as amostras armazenadas em tubos de plástico
24 foram congeladas a -20 °C para posteriores análises de creatinina, alantóina e ácido
25 úrico.

1 A concentração de creatinina na urina foi determinada pelo método de ponto final
2 utilizando-se picrato e acidificante (GoldAnalisa®). As análises de alantoína foram
3 realizadas pelo método colorimétrico de Fujihara et al. (1987), descrito por Chen &
4 Gomes (1992) que se baseia na hidrólise alcalina a 100 °C da alantoína a ácido
5 alantoíco, que, posteriormente são convertidos em ureia e ácido glioxílico em solução
6 ácida. Este por sua vez reage com hidrocloreto de fenilhidrazina, para produzir
7 fenilhidrazona do ácido. Este produto forma um cromógeno instável, com ferricianeto
8 de potássio, que foi medido colorimetricamente a 522 nm. As análises de ácido úrico
9 foram determinadas por kits comerciais (GoldAnalisa®) em que o ácido úrico é oxidado
10 pela uricase em alantoína, CO₂ e H₂O. Por meio de uma reação oxidativa, catalisada
11 pela peroxidase, o peróxido de hidrogênio formado reage como diclorofenolsulfonato e
12 4-aminoantipirina, produzindo uma antipirilquinonimina de cor vermelha. A
13 absorvância do complexo formado, medida em 520 nm, foi considerada diretamente
14 proporcional à concentração de ácido úrico da amostra. A excreção total dos derivados
15 de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas
16 na urina, expressas em mmol/dia, obtidas pelo produto entre a concentração das mesmas
17 na urina pelo volume urinário.

18 O volume diário de urina produzido por cada animal por sua vez foi estimado
19 multiplicando o respectivo peso corporal pela excreção média diária de creatinina de
20 27,39 mg/kg de PC/dia encontrado por Barbosa et al. (2006) para animais de mesmo
21 padrão dos utilizados no experimento (zebúinos machos castrados) e dividindo esse
22 produto pela concentração de creatinina (mg/L) de cada amostra “spot” de urina.

23 As purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da
24 excreção de derivados de purina (Y, mmol/dia) por intermédio da equação:
25 $Y = 0,85X + 0,147 \times PC^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como

1 derivados de purina (Chen & Gomes, 1992) e $0,147 \times PC^{0,75}$, a excreção de purinas de
2 origem endógena para gado Zebuino (Chen & Orskov, 2004). O fluxo intestinal de
3 compostos nitrogenados (Y, gN/dia) foi calculado segundo Chen & Gomes (1992), em
4 função das purinas microbianas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando-se a equação:
5 $Y = (70X)/(0,83 \times 0,116 \times 1000)$ em que 70 é o conteúdo de N nas purinas
6 (mgN/mmol); 0,83 é a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 a relação N
7 purina : N total nas bactérias.

8 No 15º dia de cada período experimental, foi realizada coleta de sangue em tubos
9 vacutainer com e sem anticoagulante através da punção da veia jugular. Para obtenção
10 do plasma as amostras que continham anticoagulante foram centrifugadas a 2500 g por
11 15 minutos a 4 °C. O soro foi obtido por centrifugação a 2500 g por 15 minutos a 24°C.
12 No soro, foram analisados fósforo inorgânico (Little et al., 1971) e cálcio
13 (colorimétrico, kits comerciais). No plasma determinou-se a concentração de uréia,
14 segundo o método diacetil modificado (GoldAnalisa®), e o N ureico no plasma (NUP)
15 foi obtido por meio do produto da concentração da ureia pelo valor 0,466
16 correspondente ao teor de N na ureia.

17 Para determinar o pH e a concentração de amônia (NH₃) no líquido ruminal,
18 foram colhidas amostras do fluído ruminal (aproximadamente 150 mL) no 21º dia de
19 cada período experimental, via cânula ruminal, nos tempos 0; 2; 4; 6 e 8 horas. O tempo
20 zero correspondeu à amostra colhida imediatamente antes do fornecimento da
21 alimentação da manhã (8 horas), e o tempo 8, imediatamente antes do segundo
22 fornecimento (16 horas).

23 O pH foi medido imediatamente após a coleta e outra alíquota de 50 mL do fluído
24 ruminal foi acidificada com 1 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) (1:1) foram
25 acondicionadas em frasco de polietileno e armazenadas em freezer para posterior

1 análise de amônia. As análises de amônia nas amostras do líquido ruminal foram
2 realizadas de acordo com a metodologia descrita por Fernner (1965) modificada por
3 Vieira (1980).

4 Para determinação da cinética da fase líquida foi administrado no rúmen dos
5 animais 30 g de Co-EDTA diluído em 500 mL de água destilada antes da primeira
6 alimentação (Udén et al., 1980). Foram coletados cerca de 50 mL de líquido ruminal
7 antes de colocar o Co-EDTA e a cada 2h até completar 12h, com a última coleta às 24h
8 após a administração do marcador.

9 A taxa de passagem de líquido e as curvas de concentração ruminal do cobalto
10 EDTA foram ajustadas ao modelo exponencial unicompartmental de Hungate (1966),
11 citado por Colucci (1984): $Y_{co} = A \cdot e^{(-k_1 \cdot t)}$, em que Y_{co} = concentração do indicador no
12 tempo t ; A = concentração de equilíbrio do cobalto; k_1 = taxa de passagem ou de
13 diluição do cobalto; e t = tempo de amostragem. Os parâmetros da cinética da fase
14 líquida foram calculados de acordo com Colucci et al. (1990) sendo: tempo de retenção
15 no rúmen (h) = $1 /$ taxa de passagem de fluidos ($TpRet = 1/k_1$ em %/h); volume de
16 líquido ruminal (L) = quantidade de cobalto fornecida (mg) / A ($VR = Co/A$); taxa de
17 fluxo ruminal (L/h) = taxa de passagem ou de diluição do cobalto multiplicado pelo
18 volume ruminal ($k_1 \times VR$); taxa de reciclagem da fase líquida ruminal (n° de vezes/dia) =
19 $24h/TpRet$, calculada conforme Maeng & Baldwin (1976).

20 Os dados foram interpretados por uma análise de variância adotando 5% de
21 probabilidade, quando houve efeito significativo para tratamento procedeu a análise de
22 regressão polinomial. Para medidas repetidas no tempo (pH e concentração de amônia)
23 foi considerado o efeito de horário de coleta e a interação tratamento x horário de coleta,
24 e submetidos a análise de regressão.

1 Os dados referentes aos valores de pH e às concentrações de amônia no líquido
2 ruminal também foram analisados como segue: foi ajustada a uma equação para pH e
3 outra para amônia em função do tempo, para cada animal dentro de cada tratamento e
4 período, com estas equações foram calculados, para cada animal, o tempo transcorrido
5 para atingir o máximo de acidez (pH) e as concentrações máximas e mínimas de
6 amônia. Esses pontos críticos foram analisados como variáveis biológicas, por ANOVA
7 e quando significativos, foram ajustadas equações de regressão em função da adição de
8 fitase na ração.

9

1 **Resultados e Discussão**

2 Os níveis crescentes de concentração de fitase na ração não influíram ($P>0,05$,
3 Tabela 13) o consumo de matéria seca e dos nutrientes, independente da unidade
4 utilizada para expressá-lo (g/dia, percentagem do peso corporal, (% PC), gramas/kg de
5 peso metabólico ($\text{g/kg}^{0,75}$). Em relação ao consumo de NDT, verificou-se uma resposta
6 quadrática ($P=0,04$) com o uso da fitase. O ponto crítico estimado para o máximo
7 consumo de NDT foi com a suplementação de 682 FTU/kg de ração e 4836 g/dia.

8 Hurley et al. (2002), em pesquisas com absorção aparente de fósforo por bovinos
9 mestiços (seis raças britânicas), com peso corporal médio de 458 kg, alimentados com
10 milho inteiro (86,99%) e feno de alfafa (8,01%) e diferentes concentrações de fitase (0,
11 250 e 500 FTU/kg de ração), não encontraram efeitos das concentrações da fitase sobre
12 o consumo de MS. Resultados semelhantes foram obtidos por Bravo et al. (2003), em
13 estudos com ovinos com peso corporal médio de 65 kg, não observaram efeito da adição
14 de fitase na digestibilidade da MS. Kincaid et al. (2005), avaliando os efeitos da fitase
15 (427 FTU/kg ração) em dietas de vacas Holandesas multíparas consumindo milho ou
16 cevada, não observaram efeitos dos tratamentos em relação ao consumo de matéria seca.

17 De acordo com Kincaid & Harrison (2002), as diferenças no consumo de MS
18 seriam obtidas quando o consumo de grãos na dieta fosse superior a 50%, esta
19 afirmação é contrariada pelos resultados obtidos na pesquisa, uma vez que o
20 concentrado representou 80%.

21

Tabela 13. Consumo de matéria seca e de nutrientes por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	0 FTU	300 FTU	600 FTU	900 FTU	1200 FTU			
	Consumo (g/dia)							
MS ²	6405,19	6762,50	6715,20	6503,83	6765,76	$\hat{Y} = 6630,50$	-	252,18
MO	6215,27	6551,33	6503,49	6304,94	6557,47	$\hat{Y} = 6426,50$	-	244,68
PB	855,84	904,43	902,75	877,08	899,28	$\hat{Y} = 887,88$	-	35,39
FDNcp	1342,72	1446,40	1419,47	1331,90	1439,51	$\hat{Y} = 1396,00$	-	68,20
EE	209,35	223,18	218,44	211,34	220,39	$\hat{Y} = 216,54$	-	8,80
CHOT	5230,57	5511,31	5472,02	5296,93	5526,16	$\hat{Y} = 5407,40$	-	200,96
CNF	3880,67	4060,35	4046,85	3960,72	4082,41	$\hat{Y} = 4006,20$	-	142,10
P	19,56	20,65	20,70	20,26	20,41	$\hat{Y} = 20,31$	-	0,71
Ca	25,13	26,00	26,10	26,30	25,73	$\hat{Y} = 25,85$	-	0,88
NDT	4205,27	4503,16	5095,06	4556,27	4548,65	$\hat{Y} = 4184,89 + 1,91X - 0,0014X^2$	0,04	208,40
	Consumo (% PC)							
MS	1,96	2,04	2,05	2,00	2,06	$\hat{Y} = 2,02$	-	0,06
MO	1,90	1,98	1,98	1,94	2,00	$\hat{Y} = 1,96$	-	0,06
FDN	0,41	0,44	0,43	0,41	0,44	$\hat{Y} = 0,43$	-	0,02
NDT	1,28	1,36	1,56	1,39	1,39	$\hat{Y} = 1,27 + 0,00058X - 0,0000004X^2$	0,04	0,06
	Consumo (g/kg ^{0,75})							
MS	83,26	87,11	87,09	84,74	87,46	$\hat{Y} = 85,93$	-	2,88
MO	80,76	84,38	84,32	82,14	84,74	$\hat{Y} = 83,27$	-	2,80
FDN	17,52	18,66	18,40	17,45	18,66	$\hat{Y} = 18,14$	-	0,79
NDT	54,45	57,90	66,15	59,21	58,97	$\hat{Y} = 54,04 + 0,025X - 0,000018X^2$	0,04	2,63

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. ²Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHOT), carboidratos não fibrosos (CNF), fósforo (P), cálcio (Ca) e nutrientes digestíveis totais (NDT). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1 Analisando o consumo médio de FDN em relação ao peso corporal o mesmo foi
2 de 0,43% do PC e segundo Mertens (1999), quando o consumo de FDN é inferior a
3 1,2%/PC o consumo de MS é possivelmente controlado pela demanda energética.

4 O consumo de fósforo e cálcio estiveram acima dos preconizados para exigência
5 de manutenção de bovinos de corte (NRC, 2000), que é de 16 mg /kg de PC para fósforo e
6 15,4 mg/kg de PC para cálcio. Para bovinos com 318 kg, os consumos necessários para
7 suprir as exigências de manutenção de fósforo e cálcio seriam de 5,01 g de P/dia e 4,9 g de
8 Ca/dia.

9 As concentrações de fósforo e cálcio na dieta estimada pelo consumo de matéria
10 seca dos animais seriam e de 0,24 e 0,42 % para fósforo e cálcio, respectivamente. No
11 entanto, estes valores (Tabela 12) estão acima dos valores preconizados pelo NRC
12 (2000), o que proporcionou um maior consumo de fósforo e cálcio pelos animais em
13 todos os tratamentos (Tabela 13).

14 A utilização de fitase em dietas alto grão, não afetou ($P>0,05$) o fluxo omasal e
15 fecal da matéria seca e dos nutrientes, exceto para o fluxo fecal de extrato etéreo que
16 teve efeito quadrático ($P=0,04$) em resposta a inclusão da enzima. O ponto crítico
17 estimado para fluxo fecal de extrato etéreo ocorreu com a suplementação de 553
18 FTU/kg de ração (Tabela 14) e excreção de 47,94 g/dia.

19

Tabela 14. Fluxo omasal e fecal da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, extrato etéreo, carboidratos não fibrosos, fósforo e cálcio por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	0 FTU	300 FTU	600 FTU	900 FTU	1200 FTU			
Fluxo omasal (g/dia)								
MS	2971,01	3183,90	3646,65	3088,73	3920,53	$\hat{Y} = 3362,16$	-	492,50
MO	2664,32	2856,21	3258,27	2749,52	3531,41	$\hat{Y} = 3011,95$	-	451,23
PB	667,72	717,50	839,46	717,27	883,40	$\hat{Y} = 765,07$	-	96,40
FDN	528,77	565,15	640,25	588,20	758,91	$\hat{Y} = 616,26$	-	103,25
EE	162,51	215,29	183,85	205,04	238,19	$\hat{Y} = 200,96$	-	35,10
CHOT	1856,51	1974,16	2259,62	1856,48	2436,56	$\hat{Y} = 2076,66$	-	336,45
CNF	1327,74	1409,01	1619,37	1268,28	1677,64	$\hat{Y} = 1460,41$	-	254,25
P	28,27	30,85	33,11	29,29	36,35	$\hat{Y} = 31,57$	-	3,96
Ca	19,74	20,30	27,23	19,73	28,24	$\hat{Y} = 23,05$	0,08	2,67
Fluxo fecal (g/dia)								
MS	2460,31	2532,99	1852,78	2202,34	2464,67	$\hat{Y} = 2302,62$	0,43	278,74
MO	2275,09	2338,88	1711,49	2028,23	2276,17	$\hat{Y} = 2125,97$	-	264,64
PB	326,07	345,04	264,96	304,72	334,46	$\hat{Y} = 315,05$	-	33,75
FDN	745,01	737,94	602,41	705,47	611,54	$\hat{Y} = 680,48$	-	82,11
EE	57,66	60,68	45,43	47,22	70,93	$\hat{Y} = 62,12 - 0,0513X + 0,0000464X^2$	0,04	7,01
CHOT	1889,20	1928,61	1398,31	1678,00	1874,39	$\hat{Y} = 1753,70$	-	230,34
CNF	1144,18	1190,66	795,89	972,53	1262,84	$\hat{Y} = 1073,22$	-	185,06
P	11,87	12,47	9,65	12,24	12,84	$\hat{Y} = 11,81$	-	1,70
Ca	18,62	18,85	14,60	18,91	21,12	$\hat{Y} = 18,42$	-	2,65

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF), fósforo (P) e cálcio (Ca). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1 A excreção fecal de fósforo, não foi influenciada ($P>0,05$) pela adição da fitase,
2 justificada pelo consumo (Tabela 13) e absorção aparente (Tabela 18) desse nutriente.
3 Em estudo com diferentes concentrações de fitase (0, 250 e 500 FTU/kg ração) em
4 dietas à base de milho inteiro (86,99%) e feno de alfafa (8,01%), Hurley et al. (2002)
5 encontraram resultados em que a adição de fitase não influenciou o consumo e a
6 excreção fecal de minerais, mas os bovinos que consumiram fitase na ração tenderam a
7 aumentar concentração de fósforo nas fezes.

8 Em pesquisas com vacas leiteiras, Kincaid et al. (2005) avaliando o uso de fitase
9 em dietas à base de milho ou cevada, com volumoso à base de feno de alfafa e
10 Knowlton et al. (2007) em estudos com vacas Holandesas, com dietas à base de silagem
11 de milho e de alfafa, observaram em ambos trabalhos uma redução significativa na
12 excreção de fósforo por animais que consumiram tratamentos com fitase, mas, em
13 relação a excreção de cálcio estes autores não observaram efeitos da adição de fitase,
14 fato confirmado pela presente pesquisa (Tabela 14).

15 A digestão ruminal (DR) e intestinal (DI) e os coeficientes de digestibilidade
16 aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) e total (CDT) da matéria seca e da matéria
17 orgânica não foram influenciados ($P>0,05$), pela adição de fitase (Tabela 15). No
18 entanto, a digestão total (DT) da matéria seca e da matéria orgânica apresentou resposta
19 ($P=0,04$) quadrática com o aumento nas concentrações da fitase. O ponto máximo
20 estimado para DT da matéria seca e matéria orgânica foi semelhante quando a
21 concentração foi de 692 FTU/kg de ração.

22

Tabela 15. Digestão ruminal, intestinal, total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta, por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	0 FTU	300 FTU	600 FTU	900 FTU	1200 FTU			
Matéria Seca (MS)								
DR	3434,18	3578,60	3068,55	3415,10	2845,24	$\hat{Y} = 3268,33$	-	370,67
CDR	53,41	53,93	46,14	51,73	43,78	$\hat{Y} = 49,80$	-	5,84
DI	510,70	650,91	1793,87	886,40	1455,86	$\hat{Y} = 1059,55$	0,20	411,99
CDI	13,56	15,31	47,18	28,01	35,08	$\hat{Y} = 27,83$	0,10	8,92
DT	3944,88	4229,51	4862,42	4301,50	4301,10	$\hat{Y} = 3919,01 + 1,94X - 0,0014X^2$	0,04	211,20
CDT	61,17	62,27	72,36	66,49	64,52	$\hat{Y} = 65,36$	0,26	3,63
Matéria Orgânica (MO)								
DR	3550,94	3695,12	3245,23	3555,42	3026,06	$\hat{Y} = 3414,56$	-	337,23
CDR	56,93	57,32	50,31	55,67	47,77	$\hat{Y} = 53,60$	-	5,55
DI	389,24	517,33	1546,78	721,29	1255,24	$\hat{Y} = 885,98$	0,20	375,43
CDI	10,56	13,03	45,39	25,80	33,17	$\hat{Y} = 25,59$	0,11	9,38
DT	3940,18	4212,45	4792,01	4276,71	4281,31	$\hat{Y} = 3918,34 + 1,80X - 0,0013X^2$	0,04	197,61
CDT	62,97	64,03	73,64	68,18	66,21	$\hat{Y} = 67,00$	0,29	3,56
Proteína Bruta (PB)								
DR	188,13	186,93	63,29	159,81	15,88	$\hat{Y} = 122,81$	-	80,12
CDR	21,90	22,36	7,13	15,79	4,67	$\hat{Y} = 14,37$	-	8,80
DI	341,65	372,46	574,50	412,56	548,95	$\hat{Y} = 450,02$	0,29	89,78
CDI	49,72	48,28	66,91	56,00	60,08	$\hat{Y} = 56,20$	0,13	5,21
DT	529,78	559,39	637,79	572,37	564,83	$\hat{Y} = 637,79$	0,25	32,05
CDT	61,59	61,34	70,14	64,99	63,48	$\hat{Y} = 64,31$	0,36	3,29

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. DR - digestão ruminal (g/dia); DI – digestão intestinal (g/dia); DT – digestão total (g/dia); CDR - coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (%); CDI - coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (%); CDT - coeficiente de digestibilidade aparente total (%). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1 Os diferentes níveis de concentração de fitase não influíram ($P>0,05$) sobre a
2 digestão parcial e total e os coeficientes de digestibilidade aparente parcial e total da
3 proteína bruta (Tabela 15).

4 Para bovinos de corte alimentados com rações contendo fitase pouco se sabe sobre
5 os efeitos que a enzima pode exercer em nível intestinal, mas, em suínos esta influência
6 já é bem estudada, no entanto a literatura é conflitante.

7 Várias pesquisas com utilização de fitase em dietas para suínos buscam avaliar os
8 efeitos que a fitase exerce sobre a digestibilidade ileal da proteína. Kemme et al. (1999)
9 trabalhando enzima exógena (*Aspergillus niger*) com concentração de 900 FTU/kg de
10 ração, em dietas à base de milho e farelo de soja para suínos, relataram uma tendência
11 de aumento na digestibilidade ileal da proteína bruta em 1,6%.

12 Mroz et al. (1994) demonstraram melhora na digestibilidade ileal da proteína com
13 a adição de fitase em suínos. Adeola & Sands (2003) observaram que a digestibilidade
14 do nitrogênio não foi influenciada pela adição de fitase na dieta de suínos, e o efeito
15 significativo foi apenas para a disponibilidade do fósforo fítico presente nos vegetais. A
16 literatura é conflitante em relação a utilização da fitase para melhorar a utilização de
17 proteínas e aminoácidos.

18 Em estudos mais recentes com suínos Sands et al. (2009) demonstraram que o
19 maior percentual de nitrogênio retido foi observado para animais que consumiam dietas
20 com suplementação de fitase.

21 Quanto aos parâmetros de digestão parcial e total e para os coeficientes de
22 digestibilidade aparente parcial e total do extrato etéreo e da FDN (Tabela 16), não
23 houve respostas ($P>0,05$) ao uso da fitase.

1 Os valores negativos para a DI e CDI da FDN (Tabela 16), são atribuídos a
 2 dificuldade de determinar a concentração de FDN em dietas alto grão, uma vez que o
 3 FDN nos grãos é baixo (Tabela 12).

4

Tabela 16. Digestão ruminal, intestinal, total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total do extrato etéreo, da fibra em detergente neutro e dos carboidratos não fibrosos por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	Unidades de Fitase (FTU)							
	0	300	600	900	1200			
Extrato Etéreo (EE)								
DR	46,85	7,89	34,58	6,30	-17,79	$\hat{Y} = 15,57$	-	32,27
CDR	21,27	6,41	17,06	0,45	-3,22	$\hat{Y} = 8,39$	-	14,66
DI	104,84	154,61	138,42	157,82	167,26	$\hat{Y} = 44,59$	-	35,10
CDI	52,49	68,87	70,88	76,60	65,51	$\hat{Y} = 66,87$	-	9,34
DT	151,69	162,50	173,00	164,12	149,46	$\hat{Y} = 60,15$	-	10,46
CDT	71,72	72,32	78,89	77,09	68,87	$\hat{Y} = 73,78$	0,23	3,24
Fibra em detergente neutro (FDN)								
DR	813,95	881,25	779,22	743,71	680,59	$\hat{Y} = 79,74$	-	97,33
CDR	60,48	61,36	56,79	54,27	48,41	$\hat{Y} = 56,26$	-	7,01
DI	-216,25	-172,79	37,83	-117,27	147,37	$\hat{Y} = -4,22$	0,37	141,23
CDI	-67,77	-35,33	-19,17	-27,80	11,00	$\hat{Y} = -27,81$	-	32,68
DT	597,70	708,45	817,05	626,44	827,96	$\hat{Y} = 15,52$	0,20	80,28
CDT	44,29	49,27	57,38	47,45	57,70	$\hat{Y} = 51,22$	0,32	5,31

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. DR - digestão ruminal (g/dia); DI – digestão intestinal (g/dia); DT – digestão total (g/dia); CDR - coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (%); CDI - coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (%); CDT - coeficiente de digestibilidade aparente total (%). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

5

6 A digestão e o coeficiente de digestibilidade aparente (Tabela 17) dos
 7 carboidratos totais (CHOT) e os carboidratos não fibrosos (CNF) não foram
 8 influenciados ($P > 0,05$) pelo uso de fitase, exceto para a DT dos CNF que apresentou
 9 resposta quadrática ($P = 0,02$), com ponto crítico máximo estimado para a concentração
 10 de 646 FTU/kg e DT de 3111 g/dia. Os valores negativos obtidos pelo DI e CDI dos

1 CHOT podem ser justificados pela variabilidade dos dados, mostrado pelo erro padrão
2 da média (Tabela 17).

3 Apesar dos CDT da PB, EE, FDNcp e CNF não terem apresentado efeito as
4 diferentes concentrações de fitase, os nutrientes digestíveis totais apresentaram efeito
5 quadrático ($P=0,04$, Tabela 17) com o aumento nas concentrações de fitase na ração. O
6 ponto de máximo NDT foi estimado com a concentração de fitase de 600 FTU/kg de
7 ração.

8 A adição de fitase em dietas ricas em concentrado não influenciou ($P>0,05$,
9 Tabela 18) o desaparecimento e a absorção aparente de fósforo. Da mesma forma
10 Shanklin (2001), não obteve melhoria na absorção de fósforo pela adição de fitase em
11 dietas de ovinos. Resultados semelhantes também foram obtidos por Hankis-Herr et al.
12 (2009), em estudos com 0 e 600 FTU/kg de ração, em dietas alto grão (79% de milho e
13 15 % de silagem, base na MS) com dois tipos de milho (controle e baixo teor de ácido
14 fítico) observaram a adição de fitase na ração não foi eficiente para aumentar a absorção
15 aparente de fósforo pelos animais em terminação. No entanto, Hurley et al. (2002), que
16 avaliando os efeitos da concentração de fitase para bovinos, em dois experimentos,
17 observaram a concentração entre 400 a 500 FTU/kg de ração melhoraram a absorção
18 aparente de fósforo, cálcio e magnésio em dietas de terminação.

19 Em outros estudos avaliando a liberação ruminal de fósforo, Bravo et al. (2002) e
20 Bravo et al. (2003) observaram resultados contrários aos obtidos no presente estudo,
21 verificaram que o uso da fitase melhorou a solubilização e disponibilidade de fósforo
22 dos alimentos, seja a nível ruminal ou abomasal.

23

24

25

Tabela 17. Digestão ruminal, intestinal e total e coeficientes de digestibilidade aparente ruminal, intestinal e total dos carboidratos totais e carboidratos não fibroso por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase e nutrientes digestíveis totais

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	0 FTU	300 FTU	600 FTU	900 FTU	1200 FTU			
Carboidratos totais (CHOT)								
DR	3374,06	3537,15	3212,41	3440,45	3089,61	$\hat{Y} = 3330,74$	-	240,82
CDR	64,27	65,14	59,01	64,53	57,09	$\hat{Y} = 62,10$	-	4,96
DI	-32,69	45,55	861,31	178,48	562,17	$\hat{Y} = 322,97$	0,17	272,24
CDI	-7,79	-5,27	36,06	10,14	20,37	$\hat{Y} = 10,70$	0,09	11,52
DT	3341,37	3582,70	4073,72	3618,93	3651,78	$\hat{Y} = 3653,70$	0,09	165,83
CDT	63,38	64,76	74,41	68,74	66,95	$\hat{Y} = 67,65$	0,31	3,74
Carboidratos não fibrosos (CNF)								
DR	2552,93	2651,34	2427,48	2692,45	2404,77	$\hat{Y} = 2545,79$	-	166,48
CDR	65,37	66,47	60,17	67,62	60,02	$\hat{Y} = 63,93$	-	5,03
DI	183,56	218,35	823,48	295,75	414,80	$\hat{Y} = 387,19$	0,19	192,88
CDI	10,15	6,51	49,69	24,34	24,79	$\hat{Y} = 23,10$	0,11	11,21
DT	2736,48	2869,69	3250,96	2988,20	2819,57	$\hat{Y} = 2697,80 + 1,28X - 0,00099X^2$	0,02	132,14
CDT	69,77	70,19	80,23	75,84	70,36	$\hat{Y} = 73,28$	0,34	4,13
Nutrientes digestíveis totais (NDT) ²								
%	65,04	66,26	75,70	70,18	68,13	$\hat{Y} = 63,97 + 0,024X - 0,00002X^2$	0,04	1,56

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. DR - digestão ruminal (g/dia); DI – digestão intestinal (g/dia); DT – digestão total (g/dia); CDR - coeficiente de digestibilidade aparente ruminal (%); CDI - coeficiente de digestibilidade aparente intestinal (%); CDT - coeficiente de digestibilidade aparente total (%). ²Nutrientes digestíveis totais observado (%) (Sniffen et al., 1992). EPM – erro padrão da média. - = não significativo.

1 Kincaid et al. (2005) em pesquisas com vacas leiteiras múltiparas, alimentadas
 2 com uma ração total misturada com adição de milho (26%) ou cevada (26%), com ou
 3 sem adição de fitase (0 e 427 FTU/kg de ração), observaram aumento na absorção
 4 aparente de fósforo para as vacas que receberam a enzima.

5

Tabela 18. Desaparecimento ruminal, intestinal, total e absorção aparente ruminal, intestinal e total do fósforo e cálcio por bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	FTU (Unidades de fitase)							
	0	300	600	900	1200			
Fósforo								
DR	-8,70	-10,20	-12,40	-9,03	-15,94	$\hat{Y} = -11,26$	-	3,53
AAR	-46,22	-46,73	-62,49	-47,72	-75,82	$\hat{Y} = -55,80$	-	15,60
DI	16,40	18,38	23,45	17,04	23,51	$\hat{Y} = 19,76$	0,42	3,38
AAI	57,79	59,01	70,91	58,72	65,00	$\hat{Y} = 62,28$	0,37	5,19
DT	7,70	8,18	11,05	8,01	7,57	$\hat{Y} = 8,50$	-	1,56
AAT	38,11	40,96	52,71	41,62	38,82	$\hat{Y} = 42,44$	-	7,78
Cálcio								
DR	5,39	5,71	-1,13	6,57	-2,51	$\hat{Y} = 2,81$	0,19	2,09
AAR	21,20	23,03	-4,31	24,14	-6,51	$\hat{Y} = 11,51$	-	7,97
DI	1,12	1,44	12,62	0,82	7,12	$\hat{Y} = 4,63$	-	2,82
AAI	0,74	2,60	41,39	-1,70	21,80	$\hat{Y} = 12,97$	-	13,07
DT	6,53	7,15	11,50	7,39	4,61	$\hat{Y} = 7,43$	-	2,28
AAT	24,86	27,17	43,30	29,03	20,39	$\hat{Y} = 28,94$	0,052	9,40

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração DR - desaparecimento ruminal (g/dia); DI – desaparecimento intestinal (g/dia); DT – desaparecimento total (g/dia); AAR – absorção aparente ruminal (%); AAI – absorção aparente intestinal (%); AAT – absorção aparente total (%). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

6

7 Knowlton et al. (2007) testando os efeitos da adição de duas enzimas, celulase
 8 (4450 UI/kg de ração) e fitase (1465 FTU/kg de ração) para vacas Holandesas, com
 9 dieta à base de silagem de milho e de feno de alfafa, verificaram maior absorção
 10 aparente em animais que consumiram celulase e fitase na ração. As vacas que
 11 receberam a dieta controle e a adição e de enzima apresentaram absorção aparente de
 12 fósforo de 39,6% vs 46,1%, respectivamente. Similarmente Buendía et al. (2010)

1 mostram que cordeiros alimentados com dietas de terminação à base de sorgo (70% na
2 MS) e níveis crescentes de adição de fitase (0; 750; 1500 e 2250 FTU/kg de ração),
3 tiveram aumento linear na retenção de fósforo em animais.

4 A ausência de efeito da adição de fitase na dieta em relação ao desaparecimento e
5 absorção aparente de fósforo (Tabela 18) pode ser atribuída ao tipo de grão, métodos de
6 processamento, porcentagem de concentrado na dieta e a taxa de passagem ruminal que
7 pode afetar a capacidade de ação das fitases no rúmen para hidrolisar totalmente o fitato
8 dos grãos, ou mesmo pela saturação dos microrganismos ruminais na síntese e
9 eficiência de hidrólise da enzima exógena. Provavelmente a fitase pode ser mais
10 eficiente em dietas com menor teor de grãos e com menores concentrações de fósforo
11 fítico.

12 Outro fator que poderia contribuir para a redução na expressão da fitase exógena
13 seria a concentração de fitase presente na silagem, no entanto, a literatura é escassa
14 quanto a enzima oriunda dos microrganismos presentes no processo de fermentação do
15 silo e a sua estabilidade.

16 A adição de fitase na ração não influenciou ($P>0,05$) a DR, DI, DT, CDR, CDI,
17 CDT do cálcio. Em pesquisas com fitase Hurley et al (2002), quando avaliaram a
18 absorção aparente de cálcio, observaram aumento linear com adição de 500 FTU/kg de
19 ração, mas, por outro lado 250 FTU/kg de ração influenciou negativamente esta
20 absorção.

21 Animais alimentados com dieta alto grão e com diferentes concentrações de fitase
22 na ração não apresentaram efeito ($P>0,05$) para o pH estimado a partir do tempo
23 transcorrido para a máxima acidez (ponto crítico mínimo), sendo o pH médio de 6,38
24 (Tabela 19). O ponto crítico para a máxima acidez, ou seja, ponto crítico mínimo

1 ocorreu em média 5,21 horas (05h13min, Tabela 19) após a primeira alimentação e não
2 apresentou resposta ($P>0,05$) as diferentes concentrações de fitase.

3 Os valores obtido para pH estiveram acima ou semelhantes aos valores reportados
4 por Poore et al. (1990), fornecendo diferentes níveis de concentrado (30, 60 e 90%, base
5 na MS) na dieta de bovinos mestiços (25% Brahman com predominância Hereford e
6 Angus), observaram valores de pH mínimo variando de 5,40 a 6,34, e 5,34 foi o pH
7 mínimo para dietas com 90% de concentrado.

8 Resultados semelhantes foram observados por Bravo et al. (2002) em estudos com
9 o uso de fitase na ração, os quais não observaram que o aumento de concentrado na
10 dieta com ou sem adição de fitase, não alterou o pH da dieta mensurado duas horas após
11 a alimentação.

12 A concentração máxima de amônia obtida no líquido ruminal não foi influenciada
13 ($P>0,05$, Tabela 19) pela adição de fitase, e o valor médio foi de 24,20 mg/dL, atingida
14 2,06 horas (02h04min) após a alimentação. Em todos os tratamentos as concentrações
15 máximas de amônia estiveram dentro de valores adequados para o máximo crescimento
16 microbiano. Os valores obtidos para concentração de amônia (Tabela 19) foram
17 superiores aos citados por Satter & Slyter (1974) e semelhantes ou superiores aos de
18 Mehrez et al. (1977).

19

1

Tabela 19. Valores de pH e concentração de amônia (NH₃) no fluído ruminal e dos seus respectivos pontos críticos estimados em bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase, de zero a 8 horas após a primeira alimentação

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	Unidades de fitase (FTU)							
	0	300	600	900	1200			
pH								
pH	6,45	6,32	6,38	6,24	6,47	$\hat{Y} = 6,38$	-	0,10
Ponto crítico mínimo ²	4,67	5,65	4,78	5,19	5,74	$\hat{Y} = 5,21$	-	0,58
Ponto crítico mínimo ³	04:40	05:39	04:47	05:11	05:44	05:13		
Amônia (NH ₃)								
Máxima [mg/dL]	24,94	23,59	25,89	23,35	23,24	$\hat{Y} = 24,20$	-	2,52
Ponto crítico máximo ⁴	2,59	1,80	1,29	2,24	2,38	$\hat{Y} = 2,06$	-	0,60
Ponto crítico máximo ⁵	02:35	01:48	01:17	02:14	02:23	02:04		
Mínima [mg/dL]	8,62	5,79	2,68	3,25	5,49	$\hat{Y} = 5,16$	0,10	2,09
Ponto crítico mínimo ²	5,55	7,06	6,65	5,79	5,36	$\hat{Y} = 6,08$	0,13	0,72
Ponto crítico mínimo ³	05:33	07:04	06:39	05:47	05:22	06:05	-	-

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. ²Ponto crítico –valores absolutos – ponto de mínimo para pH (máxima acidez) e concentração de amônia (menor concentração), mensurados de zero até oito horas após a primeira alimentação. ³Ponto crítico de mínimo – convertido em horas e minutos. ⁴Ponto crítico – valor absoluto-ponto de máximo para concentração de amônia no fluído ruminal, mensurado de zero até oito horas após a primeira alimentação. ⁵ Ponto crítico – convertido em horas e minutos. EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

2

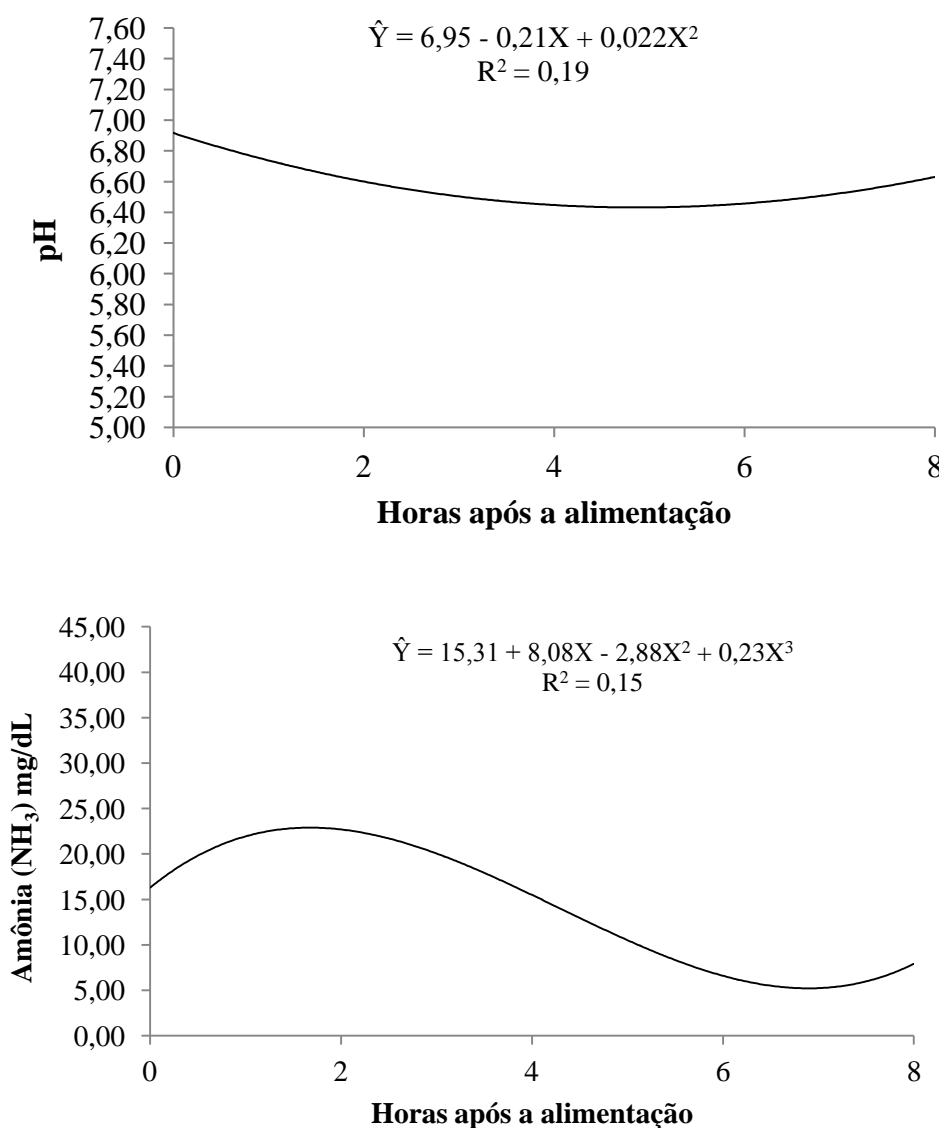
3 As concentrações mínimas e o ponto crítico mínimo de amônia, não foram
4 influídos ($P>0,05$), pelas diferentes concentrações de fitase. O ponto crítico mínimo
5 médio foi às 6,08 horas (06h05min) após a alimentação, ressaltando que próximos
6 disso, os animais seriam alimentados novamente.

7 O pH e a concentração de amônia não foram influídos ($P>0,05$) pelos tratamentos,
8 mas tiveram efeito de tempo, dessa forma o pH respondeu de forma quadrática (Figura
9 4) em função dos horários de coleta independente do tratamento e a concentração de

1 amônia apresentou efeito cúbico ($P < 0,05$, Figura 4), a medida que os horários de coleta
 2 aumentaram.

3

4



5 Figura 4. Variação do pH e da amônia do líquido ruminal em bovinos de corte
 6 alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase, de
 7 zero a 8 horas após a primeira alimentação

8

9 O volume ruminal em litros não foi influenciado pela suplementação com fitase

10 (Tabela 20). No entanto, quando o volume foi convertido para porcentagem do peso

1 corporal, apresentou resposta cúbica ($P=0,04$, Tabela 20). Os valores de volume ruminal
2 (% do PC) estiveram abaixo dos citados por Owens & Goetch (1988), cujo volume
3 ruminal total de bovinos corresponde de 15 a 21% do peso corporal. Esses valores
4 corroboram com os observados por Colucci et al. (1990), que reportaram menores
5 valores de volume ruminal por animais alimentados com dietas ricas em concentrado.

6 Quando se trabalha com dietas ricas em grãos, algumas dificuldades são
7 encontradas para estimar o volume ruminal e de acordo com Colucci et al. (1984) citado
8 por Bürguer et al. (2000), estes problemas são atribuídos a alterações na viscosidade do
9 conteúdo ruminal e, conseqüentemente, na mistura instantânea do indicador, fazendo
10 com que a concentração desse indicador nos primeiros tempos de coleta seja menor que
11 nos tempos finais, mas, esta justificativa não é válida no presente estudo, visto que não
12 se verificou problema com a concentração do indicador nos diferentes tempos de
13 coleta.

14 A taxa de passagem da fase líquida (%/h) e a taxa de reciclagem apresentaram
15 resposta cúbica ($P=0,04$, Tabela 20) ao aumento na concentração de fitase. Segundo
16 Owens & Goetsch (1988), há uma correlação positiva entre a taxa de passagem da fase
17 líquida e a eficiência de síntese de proteína microbiana. Quando há aumento na taxa de
18 passagem é proporcionado o desenvolvimento de microrganismos que se dividem
19 rapidamente, com melhor eficiência na utilização de ATP, no entanto, a eficiência de
20 síntese de proteína microbiana (Tabela 21), não foi influenciada pelas diferentes
21 concentrações de fitase na ração.

22

Tabela 20. Parâmetros da cinética ruminal de bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	Unidades de fitase (FTU)							
	0	300	600	900	1200			
VR (L)	30,02	27,08	29,46	29,51	28,71	$\hat{Y} = 28,96$	-	1,00
VR (% PC)	9,06	8,20	8,96	8,95	8,55	$\hat{Y} = 9,02 - 0,00503X + 0,000011 - 0,000000006X^3$	0,04	0,29
Kpl	10,17	12,45	11,63	11,04	12,50	$\hat{Y} = 10,19 + 0,015X - 0,000030X^2 + 0,000000016X^3$	0,04	0,72
Tempo Retenção	11,57	8,10	8,74	9,46	8,39	$\hat{Y} = 9,25$	-	1,16
Taxa Fluxo	2,93	3,36	3,36	3,11	3,38	$\hat{Y} = 3,23$	-	0,22
Tx Reciclagem	2,44	2,99	2,79	2,65	3,00	$\hat{Y} = 2,45 + 0,035X - 0,0000071X^2 + 0,000000004X^3$	0,04	0,17

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. Kpl (fase líquida) = Taxa de passagem da fase líquida (%/h); VR (L) = Volume ruminal em litros; VR (%PC) = volume ruminal % do peso corporal; Tp Retenção = Tempo de Retenção (h); TX Fluxo = Taxa de fluxo de líquidos (L/h); Tx Reciclagem = Taxa de reciclagem (vezes/dia). EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

1 O volume urinário (Tabela 21) não foi influenciado pela concentração de fitase na
2 dieta. No entanto, a excreção de alantoína na urina tendeu ($P=0,09$) a aumentar com a
3 suplementação de fitase e representou em média 93,32% das purinas totais, e estes
4 valores estão próximos dos observados por Rennó et al. (2003), 93,36% e 91,70%, e
5 Chizzotti et al. (2006) de 91,75% .

6 A alantoína e o ácido úrico representaram 99% das purinas totais e que 1% seria
7 de excreção de xantina e hipoxantina, esses valores foram similares aos observados por
8 Rennó et al. (2000), que obtiveram valor de 98%, indicando que 2% seria de xantina e
9 hipoxantina nos derivados de purina.

10 A excreção de ácido úrico aumentou linearmente ($P=0,03$, Tabela 21) com a
11 suplementação de fitase. Rennó et al. (2000) avaliando derivados de purina de cinco
12 experimentos, com diferentes níveis de consumo de concentrado (20; 25; 32,5; 37,5; 40;
13 45; 50; 57,5; 62,5; 70; e 75%, base na MS), não observaram diferenças na excreção de
14 ácido úrico na urina. Para os animais alimentados com 75% de concentrado excreção
15 média de ácido úrico de 9,04 mmol/dia.

16 Para o nitrogênio microbiano (N_{mic}) e a proteína bruta microbiana (PB_{mic})
17 (Tabela 21) houve uma tendência ($P=0,08$, Tabela 21) de aumento linear quando os
18 animais foram alimentados com fitase.

19

1

Tabela 21. Parâmetros da eficiência de síntese de proteína microbiana de bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM
	Unidades de fitase (FTU)							
	0	300	600	900	1200			
VU	9,01	8,71	8,93	7,24	4,61	$\hat{Y} = 7,70$	0,07	1,60
ALA	97,85	107,89	112,38	112,13	118,07	$\hat{Y} = 109,66$	0,09	7,36
AcU	7,85	5,89	7,93	8,57	8,98	$\hat{Y} = 6,84 + 0,0017X$	0,03	0,62
DP	105,71	113,79	120,31	120,70	127,06	$\hat{Y} = 117,51$	0,08	7,78
Pabs	110,63	120,00	127,89	128,29	135,63	$\hat{Y} = 124,49$	0,08	8,77
N mic	80,43	87,24	92,98	93,26	98,61	$\hat{Y} = 90,50$	0,08	6,67
PBmic	502,67	545,23	581,10	582,91	616,30	$\hat{Y} = 565,64$	0,07	41,63
Efic.	127,12	117,81	116,18	147,07	133,62	$\hat{Y} = 128,36$	0,27	11,54

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. VU – volume urinário (L/dia); ALA – Alantoína mmol/dia; AcU – Ácido Úrico (mmol/dia); DP – Derivativos purina (mmol/dia); Pabs – Purinas absorvidas (mmol/dia); N mic – Nitrogênio Microbiano (g/dia); PB mic – Proteína Bruta Microbiana (g/dia); Efic. – Eficiência de Síntese de Proteína Microbiana (g PB microbiana/kg de NDT consumido). EPM – erro padrão da média dos tratamentos - = não significativo.

2

3 A eficiência de síntese de proteína microbiana não foi influenciada ($P > 0,05$) pela
4 adição de fitase. Os resultados obtidos (Tabela 21) ficaram próximos ou acima dos
5 preconizados pelo NRC (2000), que é de 130 g de PB microbiana/kg de NDT
6 consumido.

7 As concentrações de fitase não influíram ($P > 0,05$) nos parâmetros séricos de
8 bovinos de corte para ureia, nitrogênio ureico, fósforo inorgânico e cálcios, visto que
9 variáveis como consumo de proteína bruta, fósforo e cálcio, CDI e CDT da PB e
10 absorção intestinal e total do fósforo e do cálcio, que tem correlação direta com as
11 concentrações séricas, não apresentaram efeitos com a adição da enzima.

12 Experimentos com novilhos zebuínos alimentados com rações contendo menores
13 valores de concentrado na dieta (45%) o e teores de proteína bruta (PB) que variaram de
14 7,0 a 14,5%, os autores obtiveram que a concentração plasmática de N-ureico foi de

1 13,52 a 15,15 mg/dL e corresponderam a máxima eficiência microbiana, e estes valores
2 são considerados limite para que não haja perda de proteínas para os animais. Os
3 valores obtidos para animais suplementados com fitase (Tabela 22) estiveram muito
4 próximos aos valores considerados limite de N-ureico.

5 As concentrações séricas de fósforo inorgânico estiveram entre 6,22 a 6,98
6 mg/dL, e segundo Harris et al. (1993), estes valores são considerados como normais
7 fisiologicamente são entre 4,0 a 8,0 mg/dL. Kincaid et al. (1993) e Block et al. (2004),
8 consideram que para animais jovens as concentrações normais de fósforo no plasma
9 estariam entre 6 a 8,0 mg/dL e para animais com maior maturidade (4 a 5 anos) estes
10 valores diminuem (4,5 a 6,0 mg/dL) e abaixo de 4,0 mg/dL indicam estado de
11 deficiência.

12 Em estudos com vacas leiteiras, avaliando a adição de fitase em dietas a base de
13 cevada ou milho, Kincaid et al. (2005) verificaram aumento nas concentrações séricas
14 de fósforo inorgânico para animais que receberam fitase, seja na dieta que continha
15 cevada (5,8 vs 6,6 mg/dL) ou milho (5,5 vs 6,0 mg/dL). Entretanto, em estudos mais
16 recentes Buendía et al. (2010), avaliando diferentes concentrações de fitase (0; 750;
17 1500 e 2250 FTU/kg de ração) para cordeiros consumindo dietas de terminação à base
18 de sorgo não apresentaram efeito do uso da fitase nas concentrações de fósforo
19 plasmático.

20 A razão Ca:P inorgânico foi de 1,3:1 e, manteve-se semelhante a obtida na dieta
21 (Tabela 13), que foi de 1,29:1, estes resultados são confirmados por Read et al. (1986)
22 que afirmam que as concentrações de fósforo inorgânico no sangue são influenciadas
23 pelo fósforo alimentar consumido.

24

1

Tabela 22. Concentrações de nitrogênio e ureia mensurados no plasma sanguíneo e fósforo e cálcio no soro sanguíneo de bovinos de corte alimentados com dieta alto grão com diferentes concentrações de fitase

	Tratamentos ¹					Regressão	Valor P	EPM ²
	Unidades de fitase (FTU)							
	0	300	600	900	1200			
Uréia (mg/dL)	34,99	39,81	33,43	33,43	32,90	$\hat{Y} = 34,91$	-	3,02
N-uréico (mg/dL)	16,30	18,55	15,58	15,58	15,33	$\hat{Y} = 16,27$	-	1,41
P (mg/dL)	6,62	6,98	6,22	6,72	6,94	$\hat{Y} = 6,70$	-	0,32
P (mmol/L)	2,14	2,25	2,01	2,17	2,24	$\hat{Y} = 2,16$	-	0,10
Ca (mg/dL)	8,56	8,82	8,54	9,06	8,68	$\hat{Y} = 8,73$	-	0,27
Ca (mmol/L)	2,14	2,21	2,14	2,27	2,17	$\hat{Y} = 2,18$	-	0,67

¹0 FTU – sem adição de fitase; 300 FTU – 300 unidades de fitase/ kg de ração; 600 FTU – 600 unidades de fitase/ kg de ração; 900 FTU – 900 unidades de fitase/ kg de ração; 1200 FTU – 1200 unidades de fitase/ kg de ração. ²EPM – erro padrão da média dos tratamentos. - = não significativo.

2

3

4

Conclusões

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

Para animais alimentados com dietas ricas em grãos e silagem de milho, a adição de fitase não exerce influências quanto aos parâmetros de fermentação ruminal, pH e amônia, digestibilidade aparente total da matéria seca e dos demais nutrientes, absorção aparente de fósforo e de cálcio, eficiência de síntese microbiana e parâmetros séricos, ureia, nitrogênio ureico plasmático, fósforo inorgânico e cálcio. A concentração de fitase na ração em 600 FTU/kg de ração proporcionou maior valor para os nutrientes digestíveis totais. A falta de eficiência da enzima para aumentar a disponibilidade do fósforo e conseqüentemente absorção aparente é por causa da dieta ser rica em grãos, causando saturação na hidrólise do fitato. A fitase pode se mostrar eficiente em dietas pobres em fósforo e usando feno como volumoso.

Referências

- 1
2
3 ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official**
4 **Methods of Analysis**. 15 ed. Arlington, V.A., 1990.
- 5 BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Efeito do
6 período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a
7 excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana
8 em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.870-877, 2006.
- 9 BLAABJERG, K.; POULSEN, H. D. Microbial phytase and liquid feeding increase
10 phytate degradation in the gastrointestinal tract of growing pigs. **Livestock Science**,
11 v.134, p.88-90, 2010.
- 12 BLOCK, H.C.; ERICKSON, G.E.; KLOPFENSTEIN, J. Re-evaluation of phosphorus
13 requirements and phosphorus retention of feedlot cattle. A review. **Professional**
14 **Animal Scientist**, v.20, p. 319-329, 2004.
- 15 BRAVO, D.; MESCHY, F.; BOGAERT, C. et al. Effects of fungal phytase addition,
16 formaldehyde treatment and dietary concentrate content on ruminal phosphorus
17 availability. **Animal Feed Science and Technology** v.99, p.73-95, 2002.
- 18 BRAVO, D.; MESCHY, F.; BOGAERT, C.; SAUVANT, D. Phosphorus availability of
19 oilseed meals determined by apparent faecal digestibility technique. **Animal Feed**
20 **Science and Technology**, v.108, p.43-60, 2003.
- 21 BUENDÍA, G.; MENDOZA, G.; PINOS-RODRÍGUEZ, J.M. et al. Influence of
22 supplemental phytase on growth performance, digestion and phosphorus balance of
23 lambs fed sorghum-based diets. **Italia Journal of Animal Science**, v.9 e 36, p.187-
24 189, 2010.
- 25 BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; VALADARES FILHO, S.C. Fermentação ruminal e
26 eficiência de síntese microbiana em bezerros Holandeses alimentados com dietas
27 contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29,
28 p.215-224, 2000.
- 29 CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C. et al. Composition of ruminal bacteria
30 harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and
31 isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2480-2488, 1990.
- 32 CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle
33 based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details.
34 **Bucksburnd: Rowett Research Institute**, 1992. 21p (Occasional publication).
- 35 CHEN, X.B.; ØRSKOV, E.R. 2004. Research on urinary excretion of purine derivatives
36 in ruminants: past, present and future. Disponível
37 em: <:www.macauley.ac.uk/IFRU/pdf>. Acesso em: 01/10/2010.
- 38 CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F. et al. Consumo,
39 digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purina em novilhas de diferentes
40 pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1813-1821, 2006.
- 41 CLARK, W.D.; WOHLT, J.E.; GILBREATH, R.L. et al. Phytate phosphorus intake and
42 disappearance in the gastrointestinal tract of high producing dairy cows. **Journal of**
43 **Dairy Science**, v.69, p.3151-3155, 1986.
- 44 COLUCCI, P. E.; MACLEOD, G. K.; GROVUM, W. L. et al. Digesta kinetics in sheep
45 and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low
46 intakes. *Journal of Dairy Science*, v.73, n.8, p.2143-2156, 1990.
- 47 COLUCCI, P.E. **Comparative digestion and digesta kinetics in sheep and cattle**.
48 Guelph:University of Guelph, 1984, 221p. Thesis (Ph.D. Thesis Animal Science) -
49 University of Guelph, 1984.

- 1 FISKE, C. H., SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus.
2 **Journal of Biological Chemistry**, v.66, p.375, 1925.
- 3 HANKINS-HERR, S.L.; ARSENEAU, J.D.; LEMENAGER, R.P. Effect low-phytate
4 corn and phytase on nutrient excretion and performance of feedlot. **The**
5 **Professional Animal Scientist**, v.25, p.360-369, 2009.
- 6 HARLAND, B.F.; MORRIS, E. Phytate: A good a bad food component?. **Nutrition**
7 **Research**, v.15, p.733-754, 1995.
- 8 Harris, B. F., D. Morse, H. H. Head, and H. H. Van Horn. Phosphorus nutrition and
9 excretion by dairy animals. **University of Florida Extension Bulletin**, p.1-11,
10 1993.
- 11 HU, H.L.; WISE, A.; HENDERSON, C. Hydrolysis of phytate and inositol tri-, tetra
12 and penta-phosphates. **Nutrition Research**, v.16, p.781-787, 1996.
- 13 HURLEY, L.A; STANTON, T.L.; JAROSZ, M.J; SCHUTZ, D. Case study: Effects of
14 dietary phosphorus and microbial phytase level on beef finishing performance. **The**
15 **Professional Animal Scientist**, v.18, p. 286-292, 2002.
- 16 KEMME, P.A.; JONGBLOED, A.W.; MROZ, Z. Digestibility of nutrients in growing–
17 finishing pigs is affected by *Aspergillus niger* phytase, phytate and lactic acid levels
18 2. Apparent total tract digestibility of phosphorus, calcium and magnesium and ileal
19 degradation of phytic acid. **Livestock Production Science**, v.58, p.119-127, 1999.
- 20 KINCAID, R. Macro elements for ruminants. In *The Ruminant Animal: Digestive*
21 *Physiology and Nutrition*. D. C. Church (Ed.). Waveland Press, Inc., IL. 1993.
- 22 KINCAID, R., HARRISON, J. Feeding barley to dairy cattle may have advantages.
23 **Feedstuffs**, v.74, p.33–40, 2002.
- 24 KINCAID, R.L.; GARIKIPATI, D.K.; NENNICH, T.D.; HARRISON, J.H. Effect of
25 grain source and exogenous phytase on phosphorus digestibility in dairy cows.
26 **Journal Dairy Science**, v.88, p.2893-2902, 2005.
- 27 KNOWLTON, K.F.; TAYLOR, M.S.; HILL, S.R. et al. Manure nutrient excretion by
28 lactating cows fed exogenous phytase and cellulose. **Journal Dairy Science**, v.90,
29 p.4356-4360, 2007.
- 30 LEÃO, M.I; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N. et al. Consumos e
31 digestibilidades totais e parciais de carboidratos totais, fibra em detergente neutro e
32 carboidratos não fibrosos em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas
33 metodologias de coletas de digesta abomasal e omasal. **Revista Brasileira de**
34 **Zootecnia**, v.34, p.670-678, 2005.
- 35 LITTLE, D.A., ROBINSON, P. J., PLAYNE, M.J., HAYCOCK, K. P. Factors affecting
36 blood inorganic phosphorus in cattle. **Australian Veterinary Journal**, v.47, p.153,
37 1971.
- 38 MAENG, W.J.; BALDWIN, R.L. Dynamics of fermentation of purified diet and
39 microbial growth in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.4, p.636-642,
40 1976.
- 41 MEHERS, A.Z.; ORSKOV, E.R. A study of the artificial fiber bag technique for
42 determining the digestibility of feeds in the rumen, **Journal of Agriculture Science**,
43 v.88, p.645-650, 1977.
- 44 MROZ, Z., A. W. JONGBLOED, AND P. A. KEMME. Apparent digestibility and
45 retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial
46 phytase and feeding regimen in pigs. **Journal of Animal Science**, v.72, p.126-132,
47 1994.
- 48 MYERS, W.D., LUDDEN, P.A., NAYIGIHUGU, V., HESS, B.W., Technical Note: a
49 procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium
50 dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.

- 1 NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle.**
2 Vol, 7 Edition. The National Academy Press, Washington, D.C. 2000. 249 p.
- 3 NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.**
4 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 405p.
- 5 PEREIRA, R. **Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação do fósforo fítico em**
6 **frangos de corte.** 2010, 58p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior
7 de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- 8 POORE, M.H.; MOORE, J.A.; SWINGLE, R.S. Differential passage rates and digestion
9 of neutral detergent fiber from grain and diets fed to steers forages in 30, 60 and
10 90% concentrate diets fed to steers. **Journal of Animal Science**, v.68, p.2965-2973,
11 1990.
- 12 READ, M.V.P.; ENGELS, E.A.N.; SMITH, W.A.. Phosphorus and the grazing ruminant.
13 4. Blood and fecal grab samples as indicators of P status of cattle. **South African**
14 **Journal Animal Science**, v.16, p.18-22, 1986.
- 15 RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de
16 proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de
17 proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: 80
18 REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40, 2003,
19 Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-
20 ROM).
- 21 RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de
22 proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista**
23 **Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1223-1234, 2000.
- 24 SANDS, J.S.; RAGLAND, D.; DILGER, R.N.; ADEOLA, O. Responses of pigs to
25 *Aspergillus niger* phytase supplementation of low-protein or high-phytin diets.
26 **Journal Animal Science**, v.87, p.2581-2589, 2009.
- 27 SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial
28 protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208,
29 1974.
- 30 SHANKLIN, R.K. **Effect of form and amount of phosphorus and phytase**
31 **supplementation on phosphorus utilization by ruminants.** 2001. 94f. Dissertação
32 [Mestrado em Animal e Poultry Sciences] - Faculdade do Instituto Politécnico
33 Virginia e Universidade Estadual. (Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and
34 State University, Blacksburg –Virginia
- 35 SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.J.; RUSSEL; J.B. A
36 net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and
37 protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.
- 38 UDEN, P., COLUCCI, P. E.; VAN SOEST P. J. Investigation of chromium, cerium
39 and cobalt as markers in digesta rate of passage studies: Domestic animals fed
40 timothy hay. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.31, p.625-632,
41 1980.
- 42 ULLAH, A.H.; SETHUMADHAVAN, K. Phy A gene product of *Aspergillus ficcum*
43 and *Peniophora lycii* produces dissimilar phytases. **Biochemical and Biophysical**
44 **Research Communications**, v. 303, p. 463-468, 2003.
- 45 VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B.A. Symposium: Methods for
46 dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to
47 animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 3583, 1991.
- 48 VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações**
49 **para ruminantes.** Viçosa, MG:UFV, 1980, 98p. Tese [Doutorado em Zootecnia] –
50 Universidade Federal de Viçosa, 1980.

- 1 WEISS, W. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL
2 NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, Ithaca.
3 **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p.176-185. 1999.
- 4 WYSS, M.; BRUGGER, R.; KRONENBERGER, A. et al. Biochemical
5 characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakiphosphate
6 phosphohydrolases): Catalytic Properties. **Applied and Environmental**
7 **Microbiology**, v.65, p. 367-373, 1999.
8