

1 UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

2

3

4

5

6

7

8

9 NARDELE MORENO ROHEM JÚNIOR

10

11

12

13

14

15

16 **COMPORTAMENTO DOS NUTRIENTES NO TRATO**
17 **GASTRINTESTINAL EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS DE**
18 **CONSUMO DE FIBRA EM BOVINOS LEITEIROS**

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

Campos dos Goytacazes – RJ
Dezembro de 2021

1 NARDELE MORENO ROHME JÚNIOR

2

3

4

5

6

7 **COMPORTAMENTO DOS NUTRIENTES NO TRATO**
8 **GASTRINTESTINAL EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS DE**
9 **CONSUMO DE FIBRA EM BOVINOS LEITEIROS**

10

11

12

13

14

15

16

Tese apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias
Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro, como requisito parcial para
obtenção do grau de Doutor em
Ciência Animal

17

18

19

20

21

22

23 **ORIENTADOR: PROF. RICARDO AUGUSTO MENDONÇA VIEIRA**

24

25

26

27

28

29

30

31

32

Campos dos Goytacazes - RJ
Dezembro 2021

1 **COMPORTAMENTO DOS NUTRIENTES NO TRATO**
2 **GASTRINTESTINAL EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS DE**
3 **CONSUMO DE FIBRA EM BOVINOS LEITEIROS**

4 Tese apresentada ao Centro de
5 Ciências e Tecnologias
6 Agropecuárias da Universidade
7 Estadual do Norte Fluminense Darcy
8 Ribeiro, como requisito parcial para
9 obtenção do grau de Doutor em
10 Ciência Animal

11
12 **Aprovada em 20 de dezembro de 2021**

13 **Banca Examinadora:**

14
15 _____
16 Prof. Fernando de Paula Leonel (D. Sc., Zootecnia) – UFSJ
17
18

19 _____
20 Prof. Luciano da Silva Cabral (D. Sc., Zootecnia) - UFMT
21
22

23
24 _____
25 Prof. Raphael Pavesi Araujo (D. Sc., Ciência Animal) - IFTO
26
27

28
29 _____
30 Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira (D. Sc., Zootecnia) - UENF
31 (Orientador)
32

AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos com um agradecimento especial aos meus pais Nardele Moreno Rohem e Maria do Carmo Rosalino Gualberto Rohem por serem os maiores incentivadores nos momentos conturbados.

Aos meus irmãos Anderson Gualberto Rohem e Raquel Gualberto Rohem agradeço por fazerem parte da minha jornada e estarem sempre ao meu lado torcendo e incentivando nas novas etapas da vida.

A Adriana Medeiros Araújo por ter chegado pra fazer a diferença na minha trajetória em campos. Fechamos com chave de ouro nossa passagem por Campos dos Goytacazes. Adriana, obrigado pela paciência e compreensão durante os estresses da qualificação, obrigado por entender minha ausência durante o experimento, obrigado por vir para caminharmos lado a lado.

Ao Matheus Abreu por ser companheiro de tarefas, amigo, conselheiro e orientador nas horas de aperto. Ainda vou te perturbar muito Kuririn.

Ao amigo e “co-orientador” Leonardo Glória, obrigado pelas dicas orientações e ajudas de última hora. Espero ainda usufruir muito dos seus conhecimentos.

Ao casal de amigos Ana Kesia e Rafael por serem grandes amigos. A participação de vocês nesses quatro anos de Doutorado foi crucial.

Ao amigo Matheus Lourenço por ter me suportado dividindo apartamento nesses 4 anos de Doutorado.

A UENF por ter me recebido e disponibilizado sua estrutura, espaço físico, laboratórios e suporte para minha formação.

Ao grupo de pesquisa composto pelos amigos Matheus Lourenço, Davi Barbosa, Victor Sales, Pablo, Leonardo, Elon, Debora, Isabela, Arthur Lobo, Rafael Gomes, Laila, Marcos Nogueira e Jhone Gleison.

Ao meu orientador Ricardo Augusto Mendonça Vieira o qual considero como um amigo por toda orientação, pelos ensinamentos, pela sabedoria transmitida, pelos conselhos, pelas broncas e pelos momentos de raiva proporcionados.

RESUMO

ROHEM JÚNIOR, Nardele Moreno. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; dezembro de 2021; Comportamento dos nutrientes no trato gastrointestinal em relação ao consumo de fibra em bovinos leiteiros. Orientador: Professor Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

As forrageiras apresentam variações em sua composição diretamente ligadas a sazonalidade e características fisiológicas das plantas, compreender como essas mudanças interferem na nutrição dos ruminantes é fundamental. Com níveis crescentes de consumo de FDN foram avaliados os efeitos sobre o consumo, quantidade no rúmen e digestibilidade dos diferentes nutrientes em bovinos leiteiros. O experimento foi conduzido com bovinos equipados com cânulas ruminais distribuídos em quadrado latino 4x4, cujos tratamentos foram níveis crescentes de fibra. Foi realizada análise de regressão linear de primeiro grau para todas as variáveis com avaliação de modelos com e sem intercepto. A única exceção foi o consumo de fibra que foi avaliado por meio do teste *Tukey*. O consumo de fibra ficou abaixo do esperado, se restringido a 6,6 g/kg de PV/dia, com intervalo que engloba os 3 maiores consumos (5,7; 6,5; 6,6), obtendo diferença apenas entre o menor nível (4g/(kg/dia)) em relação às demais. O tempo médio de retenção está relacionado a digestibilidade da dieta e ao nível de consumo, contudo, mesmo não obtendo variação no consumo de MS, foi observado maior TMR para menores níveis de fibra. A única variável que apresentou alteração de massa no rúmen foi a GB, tendo efeito de regressão linear negativa. Esse comportamento está relacionado a uma maior proporção de concentrado nas dietas com menos fibra. O consumo de PB apresentou regressão negativa, porém a massa de PB ruminal permaneceu estável, demonstrando que a microbiota foi capaz de manter sua população mesmo com menor aporte de PB. Apesar da lignina ter correlação negativa com a digestibilidade, as variações observadas no consumo deste componente não foram o suficiente para interferir na digestibilidade de nenhum dos nutrientes avaliados. Esse comportamento ficou bem explícito ao avaliar que os efeitos de regressão positiva obtido no consumo dos componentes FDNi, Lignina e Cinzas se repetiram na excreção dos mesmos. De forma geral foi observado que o nível de energia da dieta ocasionou limitação no consumo de FDN e a pouca variação observada para ingestão dos componentes fibrosos foi compensada com maior ruminação.

Palavras chave: Níveis Fibra, Digestibilidade, Tempo Médio de Retenção.

1 **ABSTRACT**

2 **ROHEM JÚNIOR, Nardele Moreno. Universidade Estadual do Norte**
3 **Fluminense Darcy Ribeiro; December 2021; Behavior of nutrients in the**
4 **gastrointestinal tract in relation to fiber intake in dairy cattle. Advisor:**
5 **Professor Ricardo Augusto Mendonça Vieira.**
6

7 Forages exhibit variations in their composition directly linked to seasonality
8 and physiological characteristics of plants. The understanding how these
9 changes interfere with ruminant nutrition is imperative. From NDF intake levels,
10 the effect on intake, rumen quantity and nutrient digestibility were evaluated in
11 this study. The experiment was conducted with castrated cattle with ruminal
12 cannulas distributed in a 4x4 Latin square design, whose fiber intake levels are
13 from treatments (4.0, 5.7, 6.5, and 6.6 g/(kg of BW x day)). The first-degree linear
14 regression analysis was performed for all variables with evaluation of models with
15 and without intercept. The only exception was fiber intake, which was analyzed
16 using the Tukey test. Fiber intake was lower than expected, reaching a maximum
17 of 6.6 g/(kg of BWxday), with an interval comprising the 3 highest intake (5.7; 6.5;
18 6.6 g/(kg of BW x day)), showing a difference only for lower level (4 g/(kg of BW
19 x day)) in relation to the others. The mean retention time (MRT) is related to the
20 digestibility of the diet and to the level of intake, however, even without obtaining
21 variation in the DM intake, a higher MRT was observed for lower levels of fiber.
22 The only variable that showed a change in mass in the rumen was GB, with a
23 negative linear regression coefficient. This behavior is related to a higher
24 proportion of concentrate in diets with less fiber. The CP intake showed a
25 negative regression coefficient, but the mass of ruminal CP remained stable,
26 demonstrating that the microbiota was able to maintain its population even with
27 a lower CP intake. Although lignin has a negative correlation with digestibility, the
28 variations observed in the intake of this component were not enough to interfere
29 in the digestibility of any of the nutrients evaluated. This behavior was explicit
30 when evaluating that the positive regression coefficient effects obtained in the
31 intake of the iNDF, Lignin and Ash components were repeated in their excretion.
32 In general, it was observed that the energy level of the diet caused a limitation in
33 the NDF intake, and the little variation observed for the intake of fibrous
34 components was compensated with greater rumination.

35
36 Key words: Dietary fiber levels, Digestibility, Mean retention time.
37
38
39
40
41
42
43

ÍNDICE

1		
2	1. INTRODUÇÃO	7
3	2. OBJETIVO	9
4	3. REVISÃO DE LITERATURA	10
5	3.1. Aspectos relacionados à fibra na nutrição de ruminantes	10
6	3.2. Técnica de esvaziamento ruminal nas estimativas da cinética de	
7	trânsito	12
8	3.3. Estimativas de <i>kp e kd</i> pela técnica de esvaziamento ruminal.....	14
9	4. MATERIAL E MÉTODOS	16
10	4.1. Animais e desenho experimental	16
11	4.2. Amostras e análises bromatológicas.....	18
12	4.3. Quantificação do conteúdo ruminal por evacuação	19
13	4.4. Incubação in situ	20
14	4.5. Análises estatísticas das amostras	20
15	5. RESULTADOS	22
16	6. DISCUSSÃO	27
17	7. CONCLUSÃO	31
18	8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
19		
20		
21		

1. INTRODUÇÃO

Tomando como pressuposição condições de ambiência adequada e sanidade dos animais ainda esbarramos em diversos fatores que podem afetar a eficiência de digestão em ruminantes. A qualidade do volumoso, a relação volumoso/concentrado, o ambiente ruminal, a qualidade da fibra fisicamente efetiva, entre outros fatores, que pode modular o aproveitamento do alimento pelo animal. O ruminante, diferentemente dos demais animais herbívoros, tem uma câmara de fermentação complexa que exige o entendimento de vários fatores para compressão de sua dinâmica.

Devido à facilidade de acesso e adequação nos mais variados ambientes, as forrageiras são o principal componente de dietas voltadas para os ruminantes, fazendo uso dos alimentos concentrados apenas para suplementar as contribuições nutricionais das forragens. As forragens são importantes fontes de nutrientes, além de fornecer proteína e energia, proporcionam fibras essenciais à ruminação e manutenção da saúde do ambiente ruminal. Na formulação de dietas para os ruminantes, a qualidade e a quantidade de forragem são fatores a serem considerados a fim de atender as exigências nutricionais, incluindo a necessidade de fibra desses animais (MERTENS, 1997).

A variação na qualidade desses alimentos é intimamente ligada a sazonalidade e características fisiológicas das plantas. Podendo apresentar variação nas relações

dos componentes da sua estrutura, assim como as concentrações dos seus componentes variam ao longo do ano (VAN SOEST, 1994). Os carboidratos que compõem essas plantas são a principal fonte de energia para os herbívoros. Entre eles o que melhor faz uso da energia contida nessas estruturas são os ruminantes. Estes, por sua vez, possuem um sistema digestivo com características próprias bem definidas, o que lhes permite aproveitar os nutrientes contidos em alimentos grosseiros, de baixa qualidade, e transformá-los em produtos nobres à nutrição humana (VAN SOEST, 1994).

A retenção dos alimentos no rúmen-retículo, permite uma relação simbiótica entre o animal e os microrganismos que habitam esse órgão. Esses microrganismos utilizam os alimentos ingeridos como substratos para o seu crescimento e, como consequência, disponibilizam nutrientes para o hospedeiro.

Apesar da fibra ser uma importante fonte de energia para os animais ruminantes, deve ser utilizada de forma correta. Dietas ricas em fibra e de baixa qualidade podem prejudicar o desempenho animal, assim como, dietas com pouca fibra longa pode desencadear distúrbios metabólicos. Desta forma, compreender as relações dos ruminantes com os alimentos fibrosos é fundamental para bom desempenho zootécnico dos animais, e sustentabilidade econômica dos sistemas de produção.

2. OBJETIVO

Com níveis crescentes de consumo de fibra avaliar os efeitos sobre o consumo, quantidade no rúmen e na digestibilidade dos diferentes nutrientes em bovinos leiteiros.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Aspectos relacionados à fibra na nutrição de ruminantes

A busca por entender a eficiência de utilização dos alimentos pelos animais deve ser objeto de estudo constante na nutrição animal, sincronizar a disponibilidade dos nutrientes com a demanda do animal pelo nutriente implica diretamente sobre a eficiência de desempenho do mesmo e impacto econômico do sistema como um todo. As variações na matéria-prima básica para alimentação animal são grandes, principalmente na nutrição de ruminantes. Compreender como esse alimento se comporta no trato digestivo dos animais para obter o ótimo econômico é o ponto chave para a sustentabilidade econômica das propriedades. Essa preocupação demanda estudos sistemáticos dos fatores que influenciam a utilização dos alimentos.

De igual forma, na nutrição de ruminantes, à medida que aumenta o interesse em reduzir os custos e melhorar a eficiência animal, aumenta também a exigência por atenção aos fatores que afetam a capacidade do rúmen utilizar a fibra alimentar. Pois, em condições normais, para essa subordem animal a fibra exerce fator fundamental em sua nutrição, além de compor a maior parte da dieta, a fibra influencia diretamente sobre as condições fisiológicas da câmara de fermentação.

A fibra é constituída por carboidratos de lenta digestão que são usados como fonte de energia pelos microrganismos do rúmen. Sendo assim, passou a se adotar a caracterização dessa fração do alimento no intuito de melhores ajustes nas dietas

desses animais (VAN SOEST, 1994). Inicialmente, por volta de 1860, foi definido fibra bruta (FB), conceito que caiu em desuso para a nutrição de ruminantes. Embutido nessa fração ainda era possível destacar alguns componentes com resposta diferente à ação da microbiota ruminal, fato que contribuiu para desencadear uma nova interpretação do comportamento da fibra no rúmen. Após o desenvolvimento do método de detergentes proposto por Van Soest (1967) foi possível um grande salto no entendimento da digestão ruminal das partículas de lenta digestão. A partir de então a FB foi dividida em dois componentes principais sendo eles a fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e a fibra insolúvel em detergente neutro (FDN). Esse novo conceito possibilitou melhor entendimento acerca da energia disponibilizada nos processos de digestão ruminal. Contudo, essa primeira interpretação ainda passou por várias modificações até chegar no método referência indicado na atualidade.

Na tentativa de isolar com pureza a FDN, Van Soest (1967) propôs na metodologia a utilização de sulfito de sódio para remover possíveis proteínas que compunham a parede celular vegetal (MERTENS, 2002). Não satisfeito com alguns resultados os autores notaram que amostras contendo maior teor de amido não eram devidamente lavadas apenas com o detergente. No intuito de garantir a retirada de todo amido das amostras de maneira eficiente Van Soest et al. (1991) ajustaram a metodologia com a inclusão de amilase termoestável no momento de fervura das amostras. Porém, nessa mesma marcha e retirou do método o sulfito de sódio, pois temia sua influência na perda de compostos fenólicos e lignina, a técnica ficou conhecida como método do resíduo de detergente neutro (RDN). A técnica ainda passou por outras alterações, acrescentando novamente o sulfito de sódio e mantendo a amilase (MERTENS, 2002). Por fim, após as referidas alterações a metodologia de referência para quantificar a FDN consiste, resumidamente, em cozinhar a amostra em solução detergente neutro com sulfito de sódio e adição de amilase termoestável padronizada, sendo o resíduo final queimado para correção das cinzas insolúveis, sendo o produto denominado matéria orgânica fibrosa representado pela sigla aFDN_{mo} (MERTENS, 2002).

Na maioria das dietas os ácidos graxos voláteis produzidos a partir da degradação da fibra no rúmen são a principal fonte de energia para o animal ruminante (MERTENS, 2002). Como já mencionado, a porção fibrosa é constituída por carboidratos de lenta digestão e dependendo da concentração e digestibilidade dos

componentes da fibra, essa pode ocasionar limitações no consumo de matéria seca e conseqüentemente energia pelo animal.

As taxas de passagem assim como a taxa de digestão são variáveis que afetam a utilização dos nutrientes no rúmen. Essas variáveis modulam o tempo e a taxa que o alimento sofre os processos digestório e absorptivo (EHLE, 1984). Diante do exposto, é fundamental compreender a dinâmica da fibra no rúmen.

3.2. Técnica de esvaziamento ruminal nas estimativas da cinética de trânsito

Os primeiros estudos com inferências diretas sobre o conteúdo dos diferentes compartimentos do trato gastrointestinal (TGI) dos ruminantes foram por meio de abate. Há trabalhos da década de 50 (PALOHEIMO e MÄKELA et al., 1959) que tinham o intuito de estimar o tempo de permanência da lignina em diferentes segmentos do trato digestivo de vacas leiteiras. Com o tempo, para evitar o abate dos animais, veio como estratégia o acesso ao material dos diferentes compartimentos do TGI por cânulas.

Reid (1965) nos seus trabalhos na década de 60, já relatava ter feito a remoção e o retorno do conteúdo do rúmen cerca de 200 vezes em dois anos de pesquisas e nenhum efeito deletério foi observado nas 8 vacas que foram submetidas à técnica. A técnica até então muito nova levantava muitas preocupações. Inclusive ele faz questão de destacar o desinteresse dos animais durante os procedimentos de coleta:

Animals accustomed to bailing usually appear quite disinterested in the procedure. The only sign of discomfort has been occasional restlessness associated with distortion of the rumen fistula, as might happen when the most anterior regions of the rumen or the reticulum were being emptied.

(REID, 1965).

O esvaziamento temporário também poderia resultar no deslocamento temporário dos (interno, abomaso), felizmente nenhuma anormalidade foi ocasionada. Outro ponto muito relevante, que poderia inviabilizar a técnica, são possíveis interferências no consumo, contudo, não são relatadas anormalidades no apetite dos animais (REID, 1965; HUHTANEN et al., 2007).

Mesmo com algumas preocupações primárias (efeito nocivo sobre animal; efeito deletério sobre a microbiota ruminal, conforto do animal, confiabilidade nos dados) o método se mostrava vantajoso, pois possibilitaria a amostragem em série e experimentos repetidos no mesmo animal ao longo do tempo.

Nos primeiros estudos com esvaziamento ainda não se sabia a extensão dos problemas que poderiam ocorrer com os processos de digestão ruminal. Reid (1965) relata preocupação com alguns fatores que poderiam intervir no funcionamento normal do rúmen. A exposição da digesta ao ar permitirá o acesso de oxigênio, perda de dióxido de carbono, mudanças no pH e na concentração de solutos, bem como resfriamento. O somatório desses efeitos poderia influenciar a atividade dos microrganismos e prejudicar a digestão do conteúdo e interferir diretamente sobre a extrapolação dessas informações para uma condição real (REID, 1965).

Dentre as possíveis interferências na digesta, Reid (1965) destaca ainda que o manuseio da digesta, no ato de remoção, na mistura e retorno do conteúdo poderia ainda resultar quebra das partículas de alimento. Além disso, o padrão normal de distribuição dos componentes dentro da massa de conteúdo, por exemplo, os gradientes de concentração de soluto serão interrompidos.

Com relação à fisiologia do animal situações como retração e a distensão do estômago, o alongamento localizado da parede do estômago, o movimento da digesta, as mãos através do estômago são estímulos sensoriais capazes de provocar mudanças de funções fisiológicas, como estímulo a ruminação e salivação ou até mesmo a força e frequência de contrações gástricas (REID, 1963; TITCHEN E REID, 1965).

Com o que já se sabia do assunto na década de 60 ainda não era possível responder qual era a magnitude e persistência desses possíveis problemas. No entanto, o monitoramento da ingestão de matéria seca e da massa de conteúdo no rúmen permitia afirmar que os possíveis efeitos não geravam depressão grosseira das taxas de digestão e passagem. Mais tarde Huhtanen et al. (2007) vieram confirmar essas informações incubando amostras em sacos de nylon antes e durante o esvaziamento.

Segundo Huhtanen et al. (2007) só na década de 80, com uma série de trabalhos de Robson (ROBINSON, 1983; ROBINSON e SNIFFEN, 1983; ROBINSON e TAMMINGA, 1984; ROBINSON e SNIFFEN, 1985; ROBINSON et al., 1985, 86a,

86b; ROBINSON et al., 1987) a técnica de evacuação ruminal passou a ser amplamente utilizada para estimar a cinética digestiva e passagem dos alimentos.

3.3. Estimativas de k_p e k_d pela técnica de esvaziamento ruminal

A ruminação dos componentes da dieta influencia diretamente na taxa de absorção e passagem. Cada taxa expressa a fração da massa de determinado componente que é digerido ou passa pelo rúmen. Essas relações estão melhor esclarecidas na Figura 1.

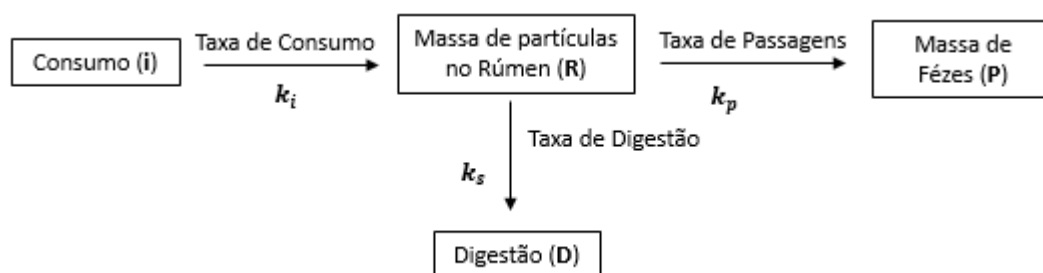


Fig. 1. Esquema da cinética da fibra do rúmen (adaptado de Robson et al., 1986).

Em estudos de digestão ruminal por esvaziamento uma série de amostras de conteúdo é coletada através da cânula de acesso e o monitoramento na variação na concentração de um determinado metabólito indica as taxas desejadas (ROBSON et al., 1987). Para tal, a concentração do metabólito será comparada com a de uma substância não fermentada, geralmente a lignina ou a FDN indigestível (FDNi).

As mudanças nas relações são então interpretadas como um índice de digestão do metabólito. Porém, só as alterações de concentração não permitem fazer estimativas quantitativas, uma vez que as amostras nas quais as análises são realizadas representam uma proporção desconhecida do pool do qual foram tiradas (ROBSON et al., 1987). Além disso, a concentração de uma dada substância no rúmen pode variar consideravelmente por uma ou qualquer combinação de razões. São elas: a taxa de ingestão do alimento; o volume do sistema em que a substância é dispersa; a ingestão de água; a degradação ser maior ou menor e, por fim, a taxa de perda por passagem também é variável.

Em seus estudos, Huhtanen et al. (2007), ao estimar os parâmetros cinéticos a partir de apenas um ponto de tempo resultou em vieses marcantes nos parâmetros cinéticos. Quando os animais foram alimentados em intervalos de 12 horas, e o momento da evacuação foi realizado antes da alimentação, ou seja, quando o rúmen ainda estava na sua capacidade mínima, os parâmetros foram superestimados. Quando a evacuação foi realizada quatro horas após a alimentação, ou seja, quando o rúmen estava no seu máximo, os parâmetros foram subestimados. Assim, fica evidente a importância dos tempos de amostragem e a quantificação total do conteúdo em diferentes momentos ao longo do dia (HUHTANEN et al., 2007).

Outro fato que merece atenção é a coleta das amostras, misturar e amostrar de forma satisfatória o conteúdo removido também pode apresentar certas dificuldades. O montante de conteúdo do rúmen pode facilmente ultrapassar os 60 kg e a homogeneização adequada da massa fibrosa sem auxílio de ferramentas mecanizadas não é tão simples (REID, 1965). Torna-se mais difícil a necessidade de minimizar a aeração e a quebra mecânica da digesta, somado a isso, há uma tendência para o líquido se separar dos resíduos sólidos. A mistura perfeita da digesta é, portanto, difícil de alcançar. De alguma forma a amostragem múltipla é essencial e deve ser realizada com o mínimo de tempo possível para evitar que o rúmen permaneça vazio por longos períodos de tempos. A partir dos apontamentos anteriores, é notado que podem ocorrer erros globais envolvidos nos procedimentos de amostragem quantitativa. No entanto, o método é prático e permite obter resultados úteis (REID, 1965).

Contudo, a técnica já é bem fundamentada, e como premissa para obtenção de estimativas confiáveis é fundamental que os animais estejam em estado estacionário ou que as evacuações sejam realizadas com frequência suficiente para permitir estimativas precisas. Também deve ser um pré-requisito é que os procedimentos de evacuação não interfiram com as funções normais do rúmen.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais e desenho experimental

Foram utilizados 4 bovinos adultos castrados da raça Jersey equipados com cânulas ruminais. Os animais pesavam entre 350-600 kg de peso vivo (PV) e foram distribuídos em um quadrado latino 4x4 balanceado seguindo a proposta de Lucas (1957).

As diferentes dietas foram formuladas para múltiplos níveis de consumo de matéria orgânica fibrosa (aFDNom¹) escalonada para o PV. Os quatro níveis pretendidos de oferta diária de fibra insolúvel em detergente neutro foram: 4, 6, 8 e 10,5 g/(kg.dia). Os demais nutrientes da dieta foram balanceados de acordo com a exigência diária em energia para os animais conforme o AFRC (1993). As dietas foram formuladas à base de silagem de milho, fubá de milho, farelo de soja e ureia com intensão de garantir consumo de fibra pretendido e atender às exigências de proteína e energia para ganho de 1kg/dia de PV.

Para o balanceamento das dietas foi utilizada uma planilha eletrônica programada no Microsoft Excel[®] por meio da ferramenta Solver[®] com a programação

¹ aFDNom: Metodologia da extração da fibra em detergente neutro com adição de sulfito, solução padronizada de α -amilase termoestável (termamyl 2X) e incineração do resíduo para correção das cinzas.

das restrições nutricionais adaptadas para novilhos a partir da programação original proposta por Jardim et al. (2013).

Tabela1: Ingredientes das dietas experimentais de cada animal em cada período

Animal	Período	Tratamento	Ingredientes dietéticos (kg/dia)			
			Silagem	Fubá de Milho	Farelo de Soja	Ureia
B1	1	6	20,322	3,551	0,517	0,070
B1	2	4	12,820	5,112	0,628	0,024
B1	3	8	29,624	1,788	0,544	0,104
B1	4	10,5	43,584	0,364	0,422	0,188
B2	1	10,5	41,796	0,351	0,410	0,181
B2	2	8	32,256	1,992	0,604	0,116
B2	3	4	15,888	6,188	0,764	0,032
B2	4	6	25,468	4,392	0,640	0,088
B3	1	8	32,666	2,009	0,609	0,115
B3	2	6	23,796	4,172	0,608	0,084
B3	3	10,5	45,964	0,380	0,444	0,196
B3	4	4	15,780	6,188	0,764	0,032
B4	1	4	11,373	4,519	0,556	0,021
B4	2	10,5	31,572	0,268	0,312	0,140
B4	3	6	18,712	3,208	0,468	0,064
B4	4	8	26,504	1,608	0,488	0,092

4, 6, 8 e 10,5 são os respectivos tratamentos que correspondem a g de FDN/kg de PV por dia.

O plano nutricional foi alocado às parcelas (interação período vs. animal) e os períodos experimentais tiveram duração de 21 dias, os quais eram divididos em 14 dias de adaptação à dieta e 7 dias de coletas. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, às 8:00 e às 20:00 h. As sobras foram coletadas antes da oferta matinal. Uma amostragem do oferecido foi coletada diariamente no período de coleta em ambos os horários de alimentação. Ao fim de cada período de coleta os animais foram pesados e as dietas experimentais ajustadas de acordo com seu PV. E, durante o período de adaptação a oferta era regulada até que a sobras fossem inferiores a 5% do ofertado.

4.2. Amostras e análises bromatológicas

Após as amostragens todos os materiais coletados foram congelados para posterior homogeneização. Após o término de cada período as amostras eram descongeladas e homogeneizadas para retirada de uma amostra composta dos 7 dias de coletas. Foi realizado o quarteamento com todas as amostras do oferecido (silagem de milho, fubá de milho, farelo de soja e ureia), sobras, conteúdo ruminal e fezes em cada período experimental, seguido de secagem em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas. Após secagem as amostras compostas foram moídas em moinho tipo Wiley, com peneira de 5 mm. Após a primeira moagem, as amostras foram divididas em duas partes, sendo uma parte moída a 2 mm para encubação *in situ* e a outra fração foi moída com peneira de 1 mm para análise bromatológica completa.

As amostras de silagem de milho, sobras de cada período, conteúdo ruminal, fezes, farelo de milho e farelo de soja foram analisadas para matéria seca (MS, método 967.03; AOAC, 1998), gordura bruta (GB, método 2003.06; THIEX et al., 2003), e cinzas (método 942.05; AOAC, 1998). A concentração de proteína bruta (PB) foi obtida pela digestão das amostras (0,25 g) com 5mL de H₂SO₄ e aproximadamente 1,5 g de mistura de Na₂SO₄ e CuSO₄.5H₂O em tubos de 100mL e transferidos para digestão em bloco de alumínio fundido, de acordo com as orientações do método 984.14 e 2001.11 (AOAC, 1998; THIEX et al., 2002). A matéria orgânica de fibra (aFDNmo) foi extraída com uso do sulfito de sódio, adição de amilase termoestável padronizada e incineração do resíduo como descrito no método 2002.04 (MERTENS, 2002). A Lignina em detergente ácido (LDA) foi obtida como recomendado por Möller (2009).

As amostras compostas de silagem de milho, farelo de milho, farelo de soja, sobras, conteúdo ruminal e fezes foram analisadas para matéria seca, gordura bruta, cinzas, proteína bruta, matéria orgânica de fibra e Lignina conforme os métodos descritos anteriormente. Já as amostras de ureia passaram apenas pelos procedimentos analíticos de matéria seca e proteína bruta.

4.3. Quantificação do conteúdo ruminal por evacuação

O conteúdo ruminal foi medido a partir da remoção manual de todo conteúdo do rúmen. Após a remoção da cânula de silicone, todo o material sólido contido no rúmen, que pôde ser removido a mão, foi retirado. As pequenas partículas e a parte líquida que não foi possível de ser retirada manualmente, foi retirada com auxílio de copo plástico (capacidade aproximada de 150mL). Todo o conteúdo foi pesado, homogeneizado manualmente e, após homogeneização, foi coletada amostra de, aproximadamente, 5% do peso total da digesta rumino-reticular. Logo após a amostragem, todo o material sólido e líquido foi rapidamente devolvido ao rúmen. Todo o procedimento foi realizado o mais breve possível para evitar que o animal permanecesse longo período sem o conteúdo ruminal e para evitar possível oxigenação do conteúdo.

Cada animal passou por 6 tempos de esvaziamento em cada período, respeitando sempre um intervalo mínimo de 28 h entre cada esvaziamento no mesmo animal. Os esvaziamentos foram realizados nos horários de 6, 10, 14, 18, 22 e 2 horas a partir do 14^o dia de adaptação de cada período (Tabela 2).

Tabela 2: Esquema de esvaziamento ruminal com os animais nos seus respectivos dias e horários de esvaziamento durante o período de coletas

Tempos	Esvaziamento (horário)	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
H1	06:00	B1	-	-	-	B4	B3	B2
H2	10:00	B2	B1	-	-	-	B4	B3
H3	14:00	B3	B2	B1	-	-	-	B4
H4	18:00	B4	B3	B2	B1	-	-	-
H5	22:00	-	B4	B3	B2	B1	-	-
H6	02:00	-	-	B4	B3	B2	B1	-

B1, B2, B3 e B4 corresponde aos 4 bovinos que foram usados.
H1, H2, H3, H4, H5 e H6 correspondem aos 6 tempos de esvaziamento.

As amostras coletadas de cada animal nos seus 6 diferentes horários foram condicionadas em freezer e posteriormente homogeneizadas compondo uma amostra única para cada animal e em cada período de coleta.

4.4. Incubação *in situ*

Após o processamento das amostras (secagem e moagem) foi realizada a incubação *in situ* de todas as amostras (alimentos, conteúdo ruminal, sobras e fezes de cada animal em cada período). As amostras moídas a 2mm foram acondicionadas em sacos de nylon (Tela de Poliamida Branca, 100% Nylon) com diâmetro de poro de 6 µm. (HUHTANEN et al., 1994). Os sacos de nylon foram confeccionados com tamanho aproximado de 5,5 × 18 cm, sendo o saco amarrado com área útil disponível para amostra de 5,5 × 12 cm. A quantidade de amostra foi calculada considerando 20 mg de MS de amostra por cm² de superfície útil do saco. Assim, foram utilizados, aproximadamente, 3 gramas de amostra parcialmente seca por saco. As amostras foram incubadas em triplicata, utilizando os animais B1, B2 e B3 do experimento. Foram incubadas as amostras de sobras, digesta ruminal e fezes de todos os animais em todos os períodos; também foram incubadas amostras dos alimentos (farelo de soja, farelo de milho e silagem de milho) colhidas em cada período experimental. Além disso, também foram incubados 3 sacos sem amostras representando o branco para incubação. O período de incubação dos sacos no rúmen foi de 288 h. Após serem retirados do rúmen, os sacos foram lavados em água corrente até a água fluir limpa. Em seguida, as amostras foram lavadas em máquina de lavar com água fria por três ciclos de 30 minutos cada. Após a lavagem, os sacos foram secos em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 h, com posterior pesagem. Os resíduos de incubação foram analisados para aFDNmo.

4.5. Análises estatísticas das amostras

O experimento foi conduzido obedecendo a um delineamento em quadrado latino 4 × 4, cujos tratamentos foram níveis de consumo diário de fibra por unidade de massa corporal (g de aFDNmo/(kg de MC × dia). O modelo matemático adotado foi o proposto por Tempelman (2004):

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + a_j + p_k + e_{ijk} \quad \text{Eq. (1)}$$

no qual y_{ijk} é o valor observado para o j-ésimo animal segundo o i-ésimo nível de consumo de fibra durante o k-ésimo período experimental. As letras gregas μ e α representam os efeitos fixos da média geral e dos níveis de consumo de fibra. As letras latinas a e p representam os efeitos aleatórios de animal e período experimental. O erro aleatório atribuído às unidades experimentais é representado pelo termo e_{ijk} .

As análises dos dados foram realizadas pelo procedimento de modelos lineares mistos generalizados (GLIMMIX) do software SAS (*SAS University Edition, SAS Systems Inc, Cary, CN, EUA*). A função densidade de probabilidade assumida para as variáveis foi a Gaussiana. A qualidade de ajuste para cada variável foi realizada por meio do plano cartesiano entre o observado (eixo Y) e o predito (eixo X), e o coeficiente de correlação de concordância ajustado (VONESH, 2012)

Foi realizada análise de regressão linear de primeiro grau para todas as variáveis, com exceção do consumo de fibra, com avaliação de modelos com e sem intercepto. Em relação à variável consumo de fibra foi realizado teste de média por meio do teste *Tukey* com nível de significância de 0.005, para verificar se houve diferença entre os níveis de consumos de fibras pretendidos e os observados.

5. RESULTADOS

Entre as dietas formuladas com níveis variados de fibra, por unidade de massa corporal, foi observada diferença apenas entre o menor nível ($F_{FDN} = 4\text{g}/(\text{kg}/\text{dia})$) em relação às demais ($P < 0,005$; Tabela 3).

Tabela 3. Média dos mínimos quadrados da diferença entre os valores pretendidos e os médios observados dos níveis de consumo diário de fibra em relação à unidade de massa corporal ($\text{g}/(\text{kg}/\text{MC}/\text{dia})$)

Pretendido	Média registrada	L. Inf ¹	L. Sup ²	Valor- <i>P</i>		
				Predito		
				4,00	6,00	8,00
4,00	4,4 ^b	3,7	5,1			
6,00	5,7 ^a	5,0	6,3	<0,001		
8,00	6,5 ^a	5,8	7,1	<0,001	0,025	
10,50	6,6 ^a	5,9	7,3	<0,001	0,010	0,951

¹ Limite inferior do intervalo de confiança a 99,5%; ² Limite superior do intervalo de confiança a 99,5%.

Mesmo sem diferença entre os três maiores níveis de consumo diário de fibra, foi possível detectar comportamento linear de primeiro grau nas variáveis consumo, “pool” ruminal e excreção fecal de alguns componentes nutricionais (Tabelas 4 a 7). Às variáveis que apresentaram efeito linear ($P < 0,01$), porém com intercepto não significativo ($P > 0,01$) foi realizada nova análise com o coeficiente angular (ou de regressão), como pode ser observado nas tabelas 4 a 7.

As dietas formuladas com níveis de consumo diário de fibra afetaram o consumo de quase todos os componentes nutricionais analisados ($P < 0,01$), com exceção das maiores frações da dieta (matéria seca (F) e matéria orgânica (F_{MO}) ($P > 0,01$). Dentre aqueles que foram afetados linearmente pelas dietas, a fibra indigestível (F_{FDNi}), lignina (F_{Lig}) e cinzas (F_{Cinzas}), proporcionaram intercepto não significativo, portanto, as equações estimadas para estes foram sem esta constante. O consumo de gordura bruta (F_{GB}) e proteína bruta (F_{PB}) foram os únicos, entre os demais analisados, que apresentaram efeito inversamente proporcional ao F_{FDN} (Tabela 4), o que significa que estes macronutrientes foram consumidos em menor quantidade com aumento de F_{FDN} .

Tabela 4: Comportamento linear de componentes nutricionais em função dos níveis de consumo diário de fibra (F_{FDN}), com valores médios e erros padrão (entre parênteses) do intercepto e coeficiente de regressão

Variáveis	Equação	Valor-P
F_{MN}^1	$\hat{y} = 2,8(\pm 2,16) + 3,90(\pm 0,295) F_{FDN}$	<0,001
F^2	$\hat{y} = 8,6 (\pm 0,58)$	0,181
F_{FDNi}^3	$\hat{y} = 0,191(\pm 0,0147)F_{FDN}$	<0,001
F_{Lig}^4	$\hat{y} = 0,057(\pm 0,0047)F_{FDN}$	<0,001
F_{MO}^5	$\hat{y} = 8,16(\pm 0,541)$	0,808
F_{Cinzas}^6	$\hat{y} = 0,07 (\pm 0,005)F_{FDN}$	<0,001
F_{GB}^7	$\hat{y} = 0,42 (\pm 0,05) - 0,027 (\pm 0,008)F_{FDN}$	0,005
F_{PB}^8	$\hat{y} = 1,4(\pm 0,181) - 0,081(\pm 0,0287)F_{FDN}$	0,015

¹consumo de matéria natural (kg/dia); ²consumo de matéria seca (kg/dia); ³consumo de fibra (kg/dia); ⁴consumo de fibra indigestível (kg/dia); ⁵consumo de lignina (kg/dia); ⁶consumo de matéria orgânica (kg/dia); ⁷consumo de cinzas (kg/dia); ⁸consumo de gordura bruta (kg/dia); ⁹consumo de proteína bruta (kg/dia).

Em relação aos “pools” no rúmen-retículo dos componentes nutricionais, apenas a gordura bruta (Q_{GB}) apresentou efeito linear ($P < 0,01$; Tabela 5). Esse nutriente apresentou relação negativa em função do F_{FDN} , assim como no consumo deste macronutriente.

Tabela 5: Estimativas da massa ruminal de componentes nutricionais em função de níveis de consumo diário de fibra. Estão apresentados as médias e o erro padrão do intercepto e/ou do coeficiente de regressão de cada componente nutricional analisado

Variável	Equação	Valor-P
CRF ¹	$\hat{y} = 65,2(\pm 4,23)$	0,388
Q ²	$\hat{y} = 7,7(\pm 0,71)$	0,396
Q _{FDN} ³	$\hat{y} = 4,6(\pm 0,57)$	0,026
Q _{FDNi} ⁴	$\hat{y} = 3,9(\pm 0,37)$	0,845
Q _{Lig} ⁵	$\hat{y} = 0,04(\pm 0,010)$	0,366
Q _{Cinzas} ⁶	$\hat{y} = 0,77(\pm 0,062)$	0,669
Q _{MO} ⁷	$\hat{y} = 6,9(\pm 0,66)$	0,948
Q _{GB} ⁸	$\hat{y} = 0,38(\pm 0,062) - 0,029(\pm 0,0092)F_{FDN}$	0,008
Q _{PB} ⁹	$\hat{y} = 0,92(\pm 0,085)$	0,514

¹massa de conteúdo ruminal fresco (kg); ²massa de matéria seca no rúmen (kg); ³massa de fibra no rúmen (kg); ⁴massa de fibra indigestível no rúmen (kg); ⁵massa de lignina no rúmen (kg); ⁶massa de matéria orgânica no rúmen (kg); ⁷massa de cinzas no rúmen (kg); ⁸massa de gordura bruta no rúmen (kg); ⁹massa de proteína bruta no rúmen (kg).

As maiores frações que compõem a massa fecal produzida diariamente (kg/dia), ou seja, matéria natural (P_{MN}), matéria seca (P_{MS}) e matéria orgânica (P_{MO}), as quais se encerram todos os nutrientes, não foram afetadas pelos níveis de consumo diário de fibra ($P > 0,01$; Tabela 6). Da mesma forma a proteína bruta (P_{PB}) não apresentou efeito de regressão, comportamento semelhante ao Q_{PB} . A massa fecal dos componentes fibrosos analisados como fibra (P_{FDN}), fibra indigestível (P_{FDNi}) e lignina (P_{Lig}), não apresentou efeito de intercepto e, portanto, as equações que as descreveram apresentaram apenas o coeficiente de regressão. Por outro lado, os macronutrientes cinzas (P_{cinzas}), gordura bruta (P_{GB}) apresentaram efeito linear com efeito de intercepto (Tabela 6).

As produções de massa fecal de gordura bruta (P_{GB}) foram inversamente proporcionais ao F_{FDN} , apresentando o mesmo comportamento observado no consumo de GB e no “pool” ruminal. O “pool” de PB no rúmen e a produção fecal de proteína seguiram o mesmo comportamento (Tabela 6).

Tabela 6: Produção fecal de componentes nutricionais em função dos níveis de consumo diário de fibra. Estão apresentados as médias e o erro padrão do intercepto e/ou do coeficiente de regressão de cada componente nutricional analisado

Variável	Equação	Valor- <i>P</i>
Fezes ¹	$\hat{y} = 14,8(\pm 1,16)$	0,213
Pr ²	$\hat{y} = 2,6(\pm 0,18)$	0,745
Pr _{FDN} ³	$\hat{y} = 0,22(\pm 0,012)F_{FDN}$	<0,001
Pr _{FDNi} ⁴	$\hat{y} = 0,25(\pm 0,015)F_{FDN}$	<0,001
Pr _{Lig} ⁵	$\hat{y} = 0,04(\pm 0,002)F_{FDN}$	<0,001
Pr _{MO} ⁷	$\hat{y} = 2,3(\pm 0,16)$	0,288
Pr _{Cinzas} ⁶	$\hat{y} = 0,05(\pm 0,06) + 0,050(\pm 0,0091)F_{FDN}$	<0,001
Pr _{GB} ⁸	$\hat{y} = 0,14(\pm 0,026) - 0,013(\pm 0,0042)F_{FDN}$	0,008
Pr _{PB} ⁹	$\hat{y} = 0,34(\pm 0,026)$	0,049

¹produção de matéria natural fecal (kg/dia); ²produção de matéria seca fecal(kg/dia); ³produção de fibra fecal (kg/dia); ⁴produção de fibra indigestível fecal (kg/dia); ⁵produção de lignina fecal (kg/dia); ⁶produção de matéria orgânica fecal(kg/dia); ⁷produção de cinzas fecal (kg/dia); ⁸produção de gordura bruta fecal (kg/dia); ⁹produção de proteína bruta fecal (kg/dia).

A digestibilidade é um parâmetro nutricional que tem relação diretamente proporcional ao consumo e inversamente à produção fecal. Nos casos dos componentes nutricionais analisados, nenhum deles apresentou efeito linear em função do F_{FDN} ($P > 0,01$; Tabela 7). Mesmo tendo observado efeito de regressão nos consumos de F_{FDNi} , F_{Lig} , F_{Cinzas} , F_{GB} e F_{PB} e na produção fecal dos componentes P_{FDN} , P_{FDNi} , P_{Lig} , P_{Cinzas} e P_{GB} , não influenciaram a digestibilidade destes componentes nutricionais. Entres estes componentes estão algumas entidades nutricionais ideais (cinzas, GB e PB) que apresentaram comportamentos lineares semelhantes nos seus respectivos consumos e na produção fecal, e sem efeito na digestibilidade aparente (Tabela 7).

Tabela 7: Digestibilidade dos componentes nutricionais em função dos níveis de consumo diário de fibra. Estão apresentados as médias e o erro padrão do intercepto e/ou do coeficiente de regressão de cada componente nutricional analisado

Variável	Equação	Valor-p
D _{MS} ¹	$\hat{y} = 698,6(\pm 6,57)$	0,229
D _{F_{DN}} ²	$\hat{y} = 539,2(\pm 14,52)$	0,057
D _{Cinzas} ³	$\hat{y} = 250,4(\pm 13,24)$	0,905
D _{MO} ⁴	$\hat{y} = 723,4(\pm 7,19)$	0,926
D _{GB} ⁵	$\hat{y} = 765,1(\pm 16,46)$	0,397
D _{PB} ⁶	$\hat{y} = 623,0(\pm 7,96)$	0,650

¹digestibilidade da matéria seca (g/kg MN); ²digestibilidade da fibra (g/kg MN); ³digestibilidade da matéria orgânica (g/kg MN); ⁴digestibilidade da matéria mineral (g/kg MN); ⁵digestibilidade da gordura bruta (g/kg MN); ⁶digestibilidade da proteína bruta (g/kg MN).

O tempo médio de retenção está intimamente ligado ao valor nutricional da dieta e ao nível de consumo. Contudo, mesmo o tratamento não proporcionando variação no consumo de MS, foi observado um maior tempo médio de retenção para menores níveis de fibra na dieta (Figura 2). A pouca variação observada na F_{MN} foi o suficiente para estimular a ruminação e proporcionar menor tempo de retenção para maiores níveis de consumo de matéria natural (Tabela 4).

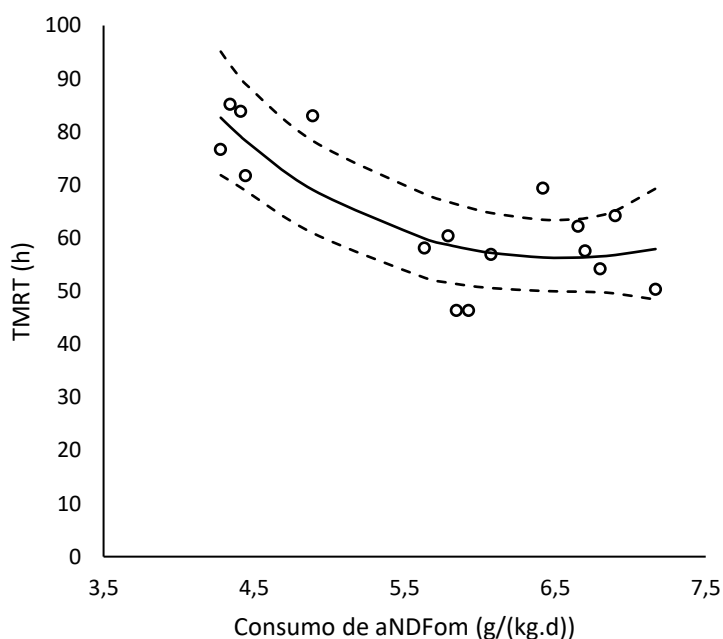


Figura 2: Tempo médio de retenção (TMRT) da fibra indigestível no trato gastrointestinal como função do consumo de fibra escalonado para a massa corporal (g/(kg.d)).

DISCUSSÃO

O consumo de alimento em ruminantes é regulado por mecanismos que atuam em longo e curto prazo. No entanto, o local primário responsável pelo controle integrado da ingestão de alimento e equilíbrio energético no corpo, é o sistema nervoso central (SNC). Embora muitos mecanismos específicos não sejam totalmente entendidos, o controle da ingestão de alimentos desses animais pode ser dividido em três mecanismos básicos: I) a regulação psicogênica, relacionada à resposta do animal a fatores inibidores ou estimuladores no alimento ou no manejo alimentar; II) o fisiológico, que é regulado pelo balanço nutricional da dieta, especificamente relacionado ao equilíbrio energético; III) o físico, que está associado à capacidade de distensão do rúmen-retículo para armazenar os alimentos (MERTENS, 1987).

A limitação por enchimento pode ser correlacionada com a quantidade de fibra em detergente neutro (FDN), as rações ricas em fibras têm baixo valor energético, conseqüentemente, o consumo é limitado pela capacidade física do animal. Virginio Júnior (2014), ao avaliar níveis crescentes de consumo de fibra (FDN) em bovinos mestiços leiteiros, observou tendência à estabilização do consumo com níveis de FDN próximos à ordem de $10,9 \pm 2,6$ g/(kg.dia). Tal estudo observou efeito de repleção ruminal e conseqüente estabilização do consumo. Porém, até o nível de oferta de FDN na ordem de 12 g/(kg.dia), o consumo de energia digestível ainda era crescente, o que demonstra que, para oferta de fibra entre 3 a 12 g/(kg.dia) em dietas isoproteicas e sem adição de alimentos ricos em energia, o limite de consumo por saciedade energética não é atingido.

Contudo, dietas onde o teor de FDN não é alto o suficiente para limitar fisicamente o consumo, a ingestão máxima atingida é aquela suficiente para atender

a demanda metabólica de energia (MERTENS, 1987; 1994; FORBES, 1995; DADO e ALLEN, 1994). Tal apontamento leva a entender que, as dietas do presente estudo, foram subestimadas para o teor de energia metabolizável. Blaxter (1956, 1966) e Van Soest (1994) argumentaram que variações na energia de concentrados são inferiores às de forragens. Portanto, acredita que o consumo equiprovável (Tabela 3) para os tratamentos 6, 8 e 10,5 pode ser atribuído à subestimação da concentração de energia da silagem de milho.

O F_{NDF} foi restringido a uma ingestão máxima de 6,6 g/kg de PV/dia, com intervalo que engloba os 3 maiores consumos registrados (5,7; 6,5; 6,6), valores estes que não se aproximam dos 12g/kg de PV/dia indicado por Mertens (1987). Diante do exposto, é notório que a ingestão de FDN pelos animais ficou abaixo do esperado em decorrência da saciedade energética dos animais.

Apesar de não ter ocorrido aumento considerável de F_{FDN} , observa-se um consumo crescente para as variáveis F_{FDNi} , F_{Cinzas} e $F_{Lignina}$. O incremento de consumo que foi observado para essas variáveis também foi observado como aumento na excreção, dentre estes, apenas a excreção de cinzas apresentou comportamento diferente, não tendo efeito de regressão. Baseado no desdobramento conceitual, proposto por Vieira et al. (1997) e Gonçalves et al. (2004), o papel do resíduo indigerível da fibra está intimamente ligado ao efeito de repleção ruminal. Contudo, por mais que o F_{FDNi} tenha apresentado efeito de regressão, não foram constatados fatos que apontem para efeito de repleção ruminal para o presente estudo.

Os componentes, gordura bruta e proteína bruta, estão diretamente correlacionados aos nutrientes digestíveis totais, enquanto as frações fibrosas apresentam correlação negativa com a disponibilidade energética dos alimentos. Tendo em vista a regressão positiva para o consumo de $FDNi$ e Lignina é compreensível a regressão negativa observada para os componentes F_{GB} e F_{PB} (Tabela 4).

Os horários de evacuações foram preestabelecidos de forma a garantir uma estimativa da quantidade média diária de ingesta no rúmen, sendo conduzido de forma a garantir que o procedimento proporcione pouca interferência na quantidade e composição da ingesta ruminal. Robson et al. (1986) observaram que a massa de conteúdo ruminal fresco (CRF) assim como massa de matéria seca no rúmen (Q) diminuiu para consumos mais baixos. Eles também relataram comportamento semelhante para matéria orgânica (MO) e massa de fibra. Outra relação interessante

destacada por esses autores foi a mudança na proporção do estrato líquido em relação ao extrato fibroso, os maiores níveis de consumo proporcionaram maior proporção de estrato fibroso.

Em trabalhos semelhantes com esvaziamento total do rúmen, outros autores (HARTNELL e SATTER, 1979; SHAVER et al., 1985) avaliaram em vacas Holandesas alimentadas com dietas ricas em forragem e também observaram variações na massa da digesta ruminal (HARTNELL e SATTER, 1979; SHAVER et al., 1985; ROBSON et al., 1986). No presente estudo a única variável que apresentou alteração de massa no rúmen foi a gordura bruta (Q_{GB}), nenhuma outra variável dentre as avaliadas se alterou (Tabela 5). Comportamento compreensível, visto que o consumo de MS e de FDN não apresentou efeito de regressão. A variável Q_{GB} apresentou efeito de regressão linear negativa assim como para F_{GB} (Tabela 4) e Pr_{GB} (Tabela 6), tal comportamento leva a crer que essa variação está mais relacionada a uma maior proporção de concentrado nas dietas com menos fibra (Tabela 1).

Muitos autores (HARTNELL e SATTER, 1979; SHAVER et al., 1985; ROBSON et al., 1986a, 1986b) evidenciam que o comportamento da digesta ruminal está diretamente relacionado ao consumo. Tendo em vista que, o consumo de PB do presente trabalho apresentou regressão negativa (Tabela 4) ao tratamento, seria plausível esse mesmo comportamento se apresentar no rúmen, porém a massa de PB ruminal permaneceu estável, demonstrando que a microbiota foi capaz de manter sua população mesmo com menor aporte de PB.

A lignina pode solubilizar no trato digestório e não ser completamente recuperada nas fezes (VAN SOEST, 1994; HUHTANEN, 2006; MERTENS, 2002). No presente estudo, tanto a lignina como a FDNi, apresentaram comportamento semelhante no consumo (Tabela 5) e na excreção (Tabela 7).

O consumo e a eficiência são os principais responsáveis pela resposta animal, contudo a eficiência e o consumo oferecem muitas variações entre os animais e, assim, o estabelecimento dos valores alimentares relativos para esses componentes é mais difícil que para a digestibilidade. Porém, isto nem sempre é verdade, o volume e as lentas taxas de digestão absoluta implicam em limitar a quantidade ingerida de volumoso de baixa qualidade, e a resposta do animal a essa alimentação de qualidade inferior pode ocasionar em uma maior frequência de alimentação e, conseqüente, compensação de ingerir mais alimento de qualidade inferior (CAMPLING e BALCH, 1962, 1961; DADO e ALLEN, 1994; VAN SOEST, 1994).

Tendo em vista que a ingestão de FDN e de matéria seca não variou significativamente entre os tratamentos, é compreensível que os valores de digestibilidade sejam constantes e, de fato, não foi observada variação para os diferentes nutrientes entre os diferentes tratamentos. Apesar de a lignina mostrar alta correlação negativa com a digestibilidade, as variações observadas no consumo deste componente (Tabela 4) não foram o suficiente para interferir na digestibilidade de nenhum dos nutrientes avaliados (Tabela 7). Os animais compensaram as variações da dieta com maior tempo de ruminação e, conseqüentemente, redução no tempo de retenção (Figura 2). Esse comportamento ficou bem explícito ao avaliar que o efeito de regressão positiva observado para o consumo de FDNi, Lignina e Cinzas também foi observado para essas mesmas variáveis na excreção.

As paredes dos pré-estômagos são musculares e ricas em inervação (sistema nervoso entérico). Esse seguimento tem influência direta sobre o conteúdo alimentar e capacidade de ingestão, exercendo funções como reter ou acelerar a passagem, movimentar a digesta de forma coordenada assim como auxiliar na digestão física. O centro controlador que coordena as contrações do órgão está no núcleo vagal, porção dorsal do tronco cerebral. Receptores de estiramento, presentes nas paredes e pilares do rúmen-retículo, operam sobre motilidade a partir de estímulos advindos da luz do rúmen-retículo. A distensão do órgão, assim como, a consistência da digesta atuam sobre esses receptores, diminuindo ou aumentando a contração e, conseqüentemente, taxa de passagem (KOZLOSKI, 2002).

Variações do volume interno no rúmen-retículo proporcionadas por material inerte, alterações na ingestão de matéria seca (MS) ou volume associado à matéria seca da digesta são suficientes para alterar o comportamento alimentar e conseqüente taxa de passagem em vacas leiteiras (CAMPLING e BALCH, 1962). No presente estudo não foram observadas alterações na ingestão de matéria seca, porém observou que a ingestão de matéria natural teve regressão positiva em resposta ao tratamento. Essa variação foi satisfatória para explicar o menor tempo médio de retenção para os maiores níveis de consumo de fibra. Altos níveis de consumo de volumosos, em ruminantes, estão associados a maiores taxas de passagem e digesta pelo trato gastrintestinal (POPPI et al., 1980). Provavelmente, a maior ingestão de matéria natural pelos animais foi compensada pela maior atividade de ruminação conforme salientado por DADO e ALLEN (1995).

6. CONCLUSÃO

O nível de energia da dieta foi subestimado ao ponto que os animais não consumiram a quantidade de fibra desejada. A pouca variação alcançada no consumo de fibra proporcionou poucas alterações para o consumo e excreção dos demais componentes avaliados. A massa dos componentes fibrosos se manteve estável em nível de rúmen, os animais compensaram a pouca variação dos componentes fibrosos com maior tempo de ruminação ao ponto que a digestibilidade se manteve estável para os diferentes níveis de consumo de fibra.

Outro ponto marcante que vale destaque é a condição de estabilidade ruminal alcançada. O número de esvaziamento realizado proporcionou estimativas coesas acerca dos componentes ruminais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. L. C. **Estudo da cinética de trânsito da fase sólida no trato gastrointestinal de ruminantes quanto à indelebilidade de indicadores.** Campos dos Goytacazes, Rj: UENF, 2016. 144p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2016.

AFRC, **Energy and protein requirements of ruminants.** CAB International, Wallingford, UK, 1993. 159 p.

AKAIKE, H., 1974. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, v.19, p. 716-723.

AOAC. **Official Methods of Analysis.** 16th Ed., 4th Revision, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg. 1998.

BIBBY, J., TOUTENBURG, H., 1977. **Prediction and Improved Estimation in Linear Models.** Wiley, Berlin.

BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection. **Sociol. Methods & Res.** 33, 261-304, 2004.

COCHRAN, W.G., COX, G.M., 1957. **Experimental Design.** Wiley, New York.

CZERKAWSKI, J.W. **Degradation of solid feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activity and its consequences.** In: MILLIGAN, L.P.; GROVUM, W.L.; DOBSON, A. (Ed.) Control of digestion and metabolism in ruminants. New Jersey:Prentice Hall, 1986. p.173-195.

- DENT, J.B., BLACKIE, M.J., 1979. **Systems Simulation in Agriculture**. Applied Science, London.
- DHANOA, M. S.; SIDDON, R. C.; FRANCE, J.; GALE, D. L. A multicompartimental model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. **British Journal of Nutrition**, v.53, p.663-671, 1985.
- EHLE, F. R. Influence of feed particle density on particulate passage from rumen of Holstein cow. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v. 67, n. 3, p. 693-697, 1984.
- ELLIS, W. C.; BEEVER, D. E. Methods for binding rare earths to specific feed particles. In: P.M. Kennedy (Ed.) *Techniques in Particle size analysis of feed and digesta in ruminants*. **Canadian Society of Animal Science**, p.154–165, 1984.
- ELLIS, W.C., WYLIE, M.J., MATIS, J.H. Validity of specifically applied rare earth elements and compartmental models for estimating flux of undigested plant tissue residues through the gastrointestinal tract of ruminants. **Journal of Animal Science**, V. 80, p. 2753–2758, 2002.
- GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis. Agricultural handbook No. 379**. Washington, D.C.: U.S.D.A., 1970.
- HARTNELL, G. F., e SATTER, L. D. (1979). Determination of Rumen Fill, Retention Time and Ruminal Turnover Rates of Ingesta at Different Stages of Lactation in Dairy Cows. **Journal of Animal Science**, 48(2), 381–392.
- HALL, M. B.; MERTENS, D. R. In vitro fermentation vessel type and method alter fiber digestibility estimates. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 1, p. 301-307, Jan 2008.
- HUHTANEN, P., ASIKAINEN, U., ARKKILA, M., JAAKKOLA, S., Cell wall digestion and passage kinetics estimated by marker and in situ methods or by rumen evacuations in cattle fed hay 2 or 18 times daily. **Animal Feed Science and Technology**, v. 133, p. 206-227, 2007.
- HUHTANEN, P., KAUSTELL, K., JAAKKOLA, S., The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 48, p. 211-227, 1994.

- KHALILI, H., 1991. Sucrose supplements in cattle given grass silage-based diet. 3. Rumen pool size and digestion kinetics. **Anim. Feed. Sci. Technol.** 33, 275–287.
- ILLIUS, A.W. e GORDON, I.J. (1991) Prediction of intake and digestion in ruminants by a model of rumen kinetics integrating animal size and plant characteristics. **Journal of Agricultural Science, Cambridge** 116, 145-157.
- LIN, L.I.-K., 1989. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, v. 45, p. 255–268.
- LUCAS, H.L. Extra-period Latin-square change-over designs. **Journal of Dairy Science**. v. 40, p.225-1957.
- MATIS, J. H. Gamma time-dependency in Blaxter's compartmental model. **Biometrics**, v.28, p.597-602, 1972.
- MATIS, J. H.; WEHRLY, T. E.; ELLIS, W. C. Some generalized stochastic compartment models for digesta flow. **Biometrics**, v. 45, p. 703-720, 1989.
- MATIS, J.H., HARTLEY, H.O., 1971. Stochastic compartmental analysis: model and least squares estimation from time series data. **Biometrics**, v. 27, p. 77-102.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.
- NETER, J., KUTNER, M.H., NACHTSHEIM, C.J., WASSERMAN, W., 1996. **Applied Linear Statistical Models**, fifth ed. McGraw-Hill, Boston.
- PALOHEIMO, L., MÄKELÄ, A., 1959. Further studies on the retention time of food in the digestive tract of cows. **Acta Agralia Fennica** v. 94, p. 15–39.
- PINHEIRO, J.C., BATES, D.M., 2000. **Mixed-effects models in S and S-PLUS**. Springer-Verlag Inc., New York.

- POND, K. R.; ELLIS, W. C.; J. H. MATIS, J. H.; FERRIERO, H. M.; J. D. SUTTON, J. D. Compartmental models for estimating attributes of digesta flow in cattle. **British Journal of Nutrition**, v.60, p.571-595, 1988.
- REID, C. S. W. 1963: Proc. **N.Z. Soc. Anim. Prod.**,23: 169.
- REID, C.S.W., 1965. Quantitative studies of digestion in the reticulo-rumen. 1. Total removal and return of digesta for quantitative sampling in studies of digestion in the reticulo-rumen of cattle. **Proc. N.Z. Soc. Anim. Sci.**, 25: 65-84.
- ROBINSON, P.H. e SNIFFEN, C.J. 1985. Forestomach and whole tract digestibility for lactating dairy cows as influenced by feeding frequency. **J. Dairy Sci.**, 68: 857-867.
- ROBINSON, P.H. e SNIFFEN, C.J., 1983. Comparison of rumen, duodenal and fecal sampling sites to estimate rumen turnover rate of markers in cows. **J. Dairy Sci.**, 66 (Suppl. 1): 187.
- ROBINSON, P.H. e TAMMINGA, S., 1984. Present knowledge of protein digestion and absorption in ruminants. **Ubers. Tierernaehr.**, 12: 119-164.
- ROBINSON, P.H., 1983. **Development and initial testing of an in vivo system to estimate rumen and whole tract digestion in lactating dairy cows.** Ph.D. Thesis, Cornell University, Ithaca, NY.
- ROBINSON, P.H., FADEL, J.G. e TAMMINGA, S., 1986a. Evaluation of mathematical models to describe neutral detergent residue in terms of its susceptibility to degradation in the rumen. **Anim. Feed Sci. Technol.**, 15: 249-271.
- ROBINSON, P.H., SNIFFEN, C.J. e VAN SOEST, P.J., 1985. Influence of level of feed intake on digestion and bacterial yield in the forestomachs of dairy cattle. **Can. J. Anim. Sci.**, 65: 437-444.
- ROBINSON, P.H., TAMMINGA, S. e VAN VUUREN, A.M., 1986b. Influence of declining level of feed intake and varying the proportion of starch in the concentrate on rumen fermentation in dairy cows. **Livest. Prod. Sci.**, 15: 173-189.
- ROBINSON, P.H., TAMMINGA, S. e VAN VUUREN, A.M., 1987. Influence of declining level of feed intake and varying the proportion of starch in the concentrate on milk

production and whole tract digestibility in dairy cows. **Livest. Prod. Sci.**, 17: 19-35.

ROBINSON, P.J., TAMMINGA, S., VAN VUUREN, A.M., 1987. Influence of declining level of feed intake and varying proportion of starch in the concentrate on rumen ingesta quantity, composition and kinetics of ingesta turnover in dairy cows. **Livest. Prod. Sci.** 17, 37–62.

ROHEM JÚNIOR, N. M. **Avaliação de modelos matemáticos e de marcadores para predição da massa ruminal de fibra e da digestão da fibra em bovinos.** Campos dos Goytacazes, RJ: UENF, 2016. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2016.

SILVA, M. C. **Modelos Não lineares para descrição do trânsito de partículas pelo trato digestório do Ruminante: Avaliação de modelos e implicações teóricas.** Campos dos Goytacazes, Rj: UENF, 2016. 82p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2014.

SHAVER, R. D., NYTES, A. J., SATTER, L. D., e JORGENSEN, N. A. (1986). Influence of Amount of Feed Intake and Forage Physical Form on Digestion and Passage of Prebloom Alfalfa Hay in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, 69(6), 1545–1559.

SNIFFEN, C.J., J.D. O'CONNOR, P.J. VAN Soest, D.G. Fox, J.B. Russel. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and Protein Availability. **Jounal Animal Science**, v. 70, p. 3562-3577, 1992

SUGIURA, N. Further analysis of the data by Akaike's Information Criterion and the finite corrections. **Communications in Statistics, Theory and Methods**, A7, 13-26, 1978.

SUTHERLAND, T.M. 1988. particle separation in the forestomach of sheep. In: **DOBSON, A., DOBSON, M.J. (Eds.) Aspects of digestive physiology** in ruminants. Ithaca, Ithaca Comstock Publishing Associates. p.43-47.

TEMPELMAN, R. J. Experimental design and statistical methods for classical and bioequivalence hypothesis testing with an application to dairy nutrition studies. **Journal of Animal Science, Champaign**, v. 82, n. E162-E172, 2004.

- TITCHEN, D. A. e REID, C. S. W. 1965: Proc. 2nd Internat. Congr. Diges: **tive Physiology and Nutrition of the Runzinant** (Ed. R. W. Dougherty). Buttenvorths, London.
- UDÉN, P.; COLUCCI, P. E.; VAN SOEST, P. J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.31, p.625-632, 1980.
- UDÉN, P.; ROBINSON, P.H.; WISEMAN, J. Use of detergent system terminolgy and criteria for submission of manuscripts on new, or revised, analytical methods as well as descriptive information on feed analysis and/or variability. **Animal Feed Science and Technology**, v.118, p.181-186, 2005.
- VAN SOEST, P.J. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. **Journal of Animal Science**, v.26, n.1, p.119-128, 1967.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Cornell University Press, Ithaca, New York, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VIEIRA, R. A. M.; TEDESCHI, L. O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 2. Integrating digestion and passage. **Journal of Theoretical Biology**, v. 255, p. 357-368, 2008b.
- VONESH, E. F. Generalized linear and nonlinear models for correlated data: **theory and applications using SAS®**. Cary, SAS Institute Inc., 2012.