ANALÍVIA MARTINS BARBOSA

FRAÇÃO ENDÓGENA E RECUPERAÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE PURINAS OBTIDAS POR DIFERENTES MÉTODOS EM BOVINOS NELORE

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

ANALÍVIA MARTINS BARBOSA

FRAÇÃO ENDÓGENA E RECUPERAÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE PURINAS OBTIDAS POR DIFERENTES MÉTODOS EM BOVINOS NELORE

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 19 de março de 2009.

Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Coorientador)

Prof. Edenio Detmann
(Coorientador)

Dr. Douglas dos Santos Pina

Prof. Lúcio Carlos Gonçalves

Profª Rilene Ferreira Diniz Valadares
(Orientadora)

SUMÁRIO

Página

RESUMO iii
ABSTRACT vi
1 INTRODUÇÃO 1
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 6
Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas em bovinos Nelore alimentados com dieta única em diferentes ofertas de matéria seca 8
Resumo 8
Introdução 10
Material e Métodos 11
Resultados e Discussão 14
Conclusões e Implicações 26
Literatura Citada 26
Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas em bovinos Nelore alimentados em nível de mantença e recebendo infusão abomasal de RNA 30
Resumo 30
Introdução 32
Material e Métodos 33
Resultados e Discussão 36
Conclusões e Implicações 41
Literatura Citada 41
3 CONCLUSÕES GERAIS 44

RESUMO

BARBOSA, Analívia Martins, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2009. **Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas obtidas por diferentes métodos em bovinos nelore**. Orientadora: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Coorientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Edenio Detmann.

Foram realizados dois experimentos utilizando oito novilhas Nelore. No primeiro, objetivou-se avaliar a fração endógena para a excreção urinária de derivados de purinas (DP) em bovinos Nelore alimentados com dieta única em diferentes níveis de oferta de matéria seca (MS), estabelecer a proporção de purinas no abomaso recuperadas na urina como derivados de purinas e verificar o efeito do nível de consumo sobre a produção microbiana (Nmic). As novilhas, com pesos médios de 258 ± 20 kg, fistuladas no rúmen e abomaso, sendo quatro destas fistuladas adicionalmente no íleo, foram alojadas em baias individuais. O experimento foi delineado em dois quadrados latinos 4 x 4, balanceados para efeito residual. Os tratamentos foram constituídos de quatro níveis de oferta da MS 1,2, 1,6, 2,0 e 2,4 % do peso vivo (PV). O experimento foi conduzido em quatro períodos de 14 dias, sendo os primeiros sete dias para adaptação. As perdas endógenas e a recuperação de bases purinas como derivados de purinas foram estimadas por regressão entre a excreção diária dos derivados de purinas na urina (Y) e as bases purinas no abomaso (X), expressas em mmol/$kg^{0,75}$, representadas, respectivamente, pela intercepta e pelo coeficiente da regressão. As perdas endógenas também foram avaliadas pela regressão entre a excreção de DP, em

mmol/kg^{0,75}, e o consumo de MS, em g/kg^{0,75}. Apesar de ter sido obtida uma faixa de variação de consumo de MS de 1,16 até 1,84 % do peso vivo (PV), não foi atingido o máximo planejado de 2,4 % PV. Os coeficientes de digestibilidade aparente total da MS e da MO variaram linearmente ($P < 0,05$) com os níveis de oferta de MS da dieta, havendo redução de 2,17 e 2,21 % para cada 1% do peso vivo, respectivamente. O coeficiente de digestibilidade aparente no ID do RNA não foi afetado ($P > 0,05$) pelos níveis de oferta de MS da dieta, obtendo-se valor médio de 75,63 %. A digestibilidade verdadeira de 92,78 % ($P < 0,0001$), foi obtida pela regressão entre a quantidade de RNA absorvida (Y) em função do fluxo de RNA no abomaso (X), expressos em mmol/kg^{0,75}. A relação média de N-RNA: N-total nas bactérias ruminais isoladas foi de 0,1369. O fluxo diário de RNA (RNA Abo) e a produção microbiana (Nmic Abo) no abomaso em função do nível de oferta de MS da dieta apresentaram comportamento quadrático, estimando-se valores máximos de 1,50 mmol/kg^{0,75} e 55,20 g Nmic, respectivamente, para os níveis de oferta de MS de 2,43 e 2,45 % do PV. A excreção urinária diária de DP, em mmol/kg^{0,75}, aumentou linearmente ($P < 0,05$) com o nível de oferta de MS da dieta. Quando foi relacionada com o consumo observado de MO digestível (kg/dia) verificou-se excreção ($P < 0,0001$) de 34,415 mmol de DP para cada kg de MO digestível ingerida. Quando a excreção de derivados de purinas, expressa em mmol/dia, foi relacionada com o consumo de NDT, kg/dia, observou-se que houve excreção ($P < 0,0001$) de 32,15 mmol para cada kg de NDT consumido. Considerando o consumo de MS expresso em g/kg^{0,75} e a excreção de DP em mmol/kg^{0,75}, obteve-se a regressão ($P<0,001$): $Y= 0,0196x + 0,2421$, sendo que o valor de 0,2421 mmol/kg^{0,75,} ou 0,24 mmol/kg^{0,75}, representa a excreção endógena de DP. A excreção diária de derivados de purinas, mmol/kg^{0,75}, em função do fluxo de RNA no abomaso (mmol/kg^{0,75}) se ajustou à regressão ($P < 0,0001$), $Y = 0,8601x + 0,4603$ ($R^2 = 0,661$) onde 0,86 representa a recuperação das purinas como derivados na urina e o valor de 0,4603 mmol/kg^{0,75} representa a fração endógena. A produção microbiana estimada pelos derivados de purinas na urina, expressa em g N/dia, em função do nível de oferta de MS da dieta, apresentou regressão linear ($P < 0,05$), estimando-se aumentos de 22,80 g Nmic por 1% de oferta de MS. Conclui-se que diferentes métodos resultaram em estimativas de 0,46 mmol/kg^{0,75} e de 0,24 mmol/kg^{0,75,} para a excreção endógena de derivados de purinas em bovinos Nelore; que a recuperação das purinas absorvidas como derivados na urina foi de 0,86 e que a digestibilidade verdadeira do RNA no ID, de 0,93, é maior do que o valor assumido na literatura para o cálculo de produção

microbiana. No segundo experimento, objetivou-se estimar a contribuição endógena para a excreção urinária de derivados de purinas (DP) e estabelecer a proporção de purinas no abomaso recuperadas na urina de bovinos Nelore por meio de diferentes níveis de infusão de RNA no abomaso. Foram utilizadas oito novilhas da raça Nelore, com peso médio de 296 ± 15 kg, fistuladas no rúmen e abomaso, alojadas em baias individuais, distribuídas em dois quadrados latinos 4 x 4, balanceados para efeito residual. Os tratamentos foram constituídos de infusões de RNA no abomaso nas dosagens de 0, 33, 66 e 100 mmol/dia. Todos os animais receberam a dieta próximo ao nível de mantença durante sete dias com finalidade de adaptação, antes do início das infusões. Em seguida à adaptação à dieta, os quatro períodos experimentais de nove dias cada um, se sucederam com o seguinte esquema: do 1º ao 5º dia – coleta de amostras de digesta de abomaso; do 1º ao 4º dia - coleta total de urina e fezes; do 5º ao 9º dia – infusão de RNA no abomaso; do 6º ao 9º dia – coleta total de urina; no 9º dia do quarto período - coleta de amostras de digesta de rúmen. Dessa forma, antes de fazer a infusão em cada animal, foram obtidos fluxos de proteína microbiana no abomaso usando bases purinas e a excreção urinária dos derivados de purina. Assim, o fluxo de bases purinas no abomaso foi obtido somando-se o valor de cada animal antes da infusão com a respectiva quantidade infundida. Os fluxos de N total no abomaso, N-RNA e RNA antes das infusões foram em média 51,15 g/dia; 5,11 e 35,23 g/dia, respectivamente. A excreção diária de derivados de purinas (Y) mmol/kg^{0,75}, em função do fluxo de RNA no abomaso (X), mmol/kg^{0,75}, se ajustou à regressão ($P < 0,0001$): $Y = 0,30127 + 0,74143\ X$, indicando que 0,30 mmol/kg^{0,75} corresponde às perdas endógenas e 0,74 é a recuperação das purinas absorvidas no abomaso como derivados de purinas na urina.

ABSTRACT

BARBOSA, Analívia Martins, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2009. **Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained through different methods in Nelore cattle**. Adviser: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Co-advisers: Sebastião de Campos Valadares Filho and Edenio Detmann.

Two experiments were executed utilizing eight Nelore heifers. The first experiment had the following objectives: aimed to evaluate the endogenous fraction at urinary excretion of purine derivatives (DP) in Nelore cattle fed single diet offering different levels of dry matter (MS); to establish the proportion of purines into abomasum recovered from urine and; to verify the effect of the level of intake upon microbial production (Nmic). Heifers were accomodated in individual stalls, with average weight of 258 ± 20kg, fistulated at rumen and abomasum, being four of those also fistulated at the ileum. The experimental design was 2 balanced latin squares 4 x 4. Treatments constituted of four levels of MS offer: 1.2, 1.6, 2.0 and 2.4 % of live weight (PV). The experiment was conducted in four periods of 14 days, being the first 7 days for adaptation. Endogenous losses and recovery of purine bases as purine derivatives were estimated by regression between daily excretion of purine derivatives in urine (Y) and purine bases into the abomasum (X), expressed in mmol/kg$^{0.75}$, represented respectively by the intercept and the regression coefficient. Endogenous losses were also evaluated by the regression between DP excretion, in mmol/kg $^{0.75}$, and the intake of MS, in g/kg$^{0.75}$. Despite variation limits of MS intake obtained were 1.16 and 1.84% of live weight (PV), the maximum value of 2.4% of PV was not achieved. Total

apparent digestibility coefficient of MS and MO varied linearly (P > 0.05) with levels of MS offer in diet, with reduction of 2.17 % and 2.21 % to each 1% of live weight respectively. Apparent digestibility coefficient of RNA at small intestine (ID) was not affected (P > 0.05) by the levels of MS offered in diet, obtaining an average value of 75.63%. True digestibility of 92.78% (P > 0.0001), was obtained by the regression between the amount of absorbed RNA (Y) as a function of RNA flux into abomasum (X), expressed in mmol/$kg^{0.75}$. The mean relation of N-RNA:N-total in isolated ruminal bacteria was 0.1369. Daily flux of RNA (RNA Abo) and microbial production (Nmic Abo) into abomasum as a function of the level of MS offer in diet presented a quadratic behavior, and estimated maximum values of 1.50 mmol/$kg^{0.75}$ and 55.20 g Nmic respectively to the levels of MS offer 2.43 and 2.45% of PV. Daily urinary excretion of DP, in mmol/$kg^{0.75}$, increased linearly (P > 0.05) with the level of MS offer in diet. And when it was related to the observed intake of digestible MO, (kg/day), the excretion (P > 0.0001) of 34.415 mmol of DP to each kg of digestible MO ingested was verified. When the excretion of purine derivatives, expressed in mmol/day, was related to the intake of NDT, kg/day, it was observed that there were excretion (P > 0.0001) of 32.15 mmol to each kg of NDT consumed. Considering the intake of MS expressed in g/$kg^{0.75}$ and the excretion of DP in mmol/$kg^{0.75}$, a regression was obtained (P > 0.0001): Y= 0.0196x + 0.2421, where 0.2421 mmol/$kg^{0.75}$ or 0.24 mmol/$kg^{0.75}$, represents the endogenous excretion of DP. Daily excretion of purine derivatives, mmol/$kg^{0.75}$, as a function of RNA flux into abomasum, mmol/$kg^{0.75}$, was adjusted to regression (P > 0.0001) Y = 0.8601x + 0.4603 (R^2 = 0.661), where 0,86 represents the recovery of purines as derivatives in urine and the value of 0.4603 mmol/$kg^{0.75}$ represents the endogenous fraction. Microbial production estimated by purine derivatives in urine, expressed in g N/day, as a function of the levels of MS offer in diet, presented linear regression (P > 0.05), estimating increases of 22.80 g Nmic per 1 % of the MS offered. It was concluded that: different methods resulted in estimates of 0.46 mmol/$kg^{0.75}$ and 0,24 mmol/$kg^{0.75}$ to endogenous excretion of purine derivatives in Nelore cattle; the recovery of absorbed purines as derivatives in urine was of 0,86 and the real digestibility of RNA in ID, 0.93, is greater than the value assumed in literature for microbial production calculation. In the second experiment, the objective was to estimate the endogenous contribution in urinary excretion of purine derivatives in Nelore cattle by means of different levels of RNA infusion into abomasum. It was used eight heifers of Nelore breed, with average weight of 296 ± 15 kg, fistulated at rumen

and abomasum, accomodated in individual stalls. The experimental design was 2 balanced latin squares 4 x 4, with four animals, four treatments and four experimental periods. Treatments constituted of infusions of RNA into abomasum at dosages of 0, 33, 66 and 100 mmol/day. Every animal received a diet balanced with levels close of their maintenance levels during seven days aiming the adaptation, before beginning of infusions. Following the adaptation to the diet, four experimental periods of nine days each ensued according the scheme: from 1^{st} to 5^{th} day – samples of digesta from the abomasum were collected; from 1^{st} to 4^{th} day – total collection of urine and feces; from 5^{th} to 9^{th} day – infusion of RNA into abomasum; from 6^{th} to 9^{th} day – total collection of urine; at the 9^{th} day of the fourth period – samples of digesta from the rumen were collected. Therefore, before executing the infusion in each animal, fluxes of microbial protein into abomasum were obtained using purine bases and urinary excretion of purine derivatives. Hence, the flux of purine bases into abomasum was obtained summing up the values of each animal before the infusion with respective infusion quantity. Flux of N total into abomasum, N-RNA and RNA before infusions were, in average, 51.15 g/day; 5.11 and 35.23 g/day, respectively. Daily excretion of purine derivatives (Y) mmol/$kg^{0.75}$, as a function of RNA flux into abomasum (X), mmol/$kg^{0.75}$, was adjusted to the regression ($P > 0.0001$): $Y = 0.30127 + 0.74143\ X$, indicating that 0.30 mmol/$kg^{0.75}$ correspond to endogenous losses and 0,74 is the purine recovery absorbed in the abomasum as purine derivatives in urine.

1 INTRODUÇÃO

Em ruminantes, o aporte de aminoácidos no duodeno é originário da proteína microbiana sintetizada no rúmen e da proteína do alimento não degradada no rúmen, sendo que a proteína microbiana pode suprir de 50 a 100 % da proteína metabolizável exigida para bovinos de corte (NRC, 1996).

Considerando que o objetivo básico dos estudos de alimentação de ruminantes é maximizar a síntese de proteína microbiana, em virtude de seu perfil aminoacídico, adequado às exigências dos animais (VALADARES FILHO; VALADARES, 2001), torna-se fundamental o estudo de métodos que permitam estimar a produção de proteína microbiana de forma rápida e rotineira em rebanhos.

Contudo, a ausência de métodos simples, precisos e exatos tem sido limitante ao progresso no entendimento da síntese de proteína microbiana (CHEN; GOMES, 1992). Métodos *in vivo* utilizam indicadores microbianos exógenos (N^{15}) ou endógenos (bases purinas), necessitando do fluxo de N-RNA no abomaso ou duodeno e da relação N-RNA: N-total nas bactérias isoladas do rúmen, parâmetros avaliados em animais fistulados.

A necessidade de desenvolvimento de técnicas não invasivas na experimentação animal favoreceu a utilização da excreção de derivados de purinas (DP) na urina para a quantificação da produção de proteína microbiana como alternativa à utilização de animais fistulados; entretanto, permanecem desafios a serem elucidados.

A estreita relação entre a produção microbiana no rúmen e a excreção de DP, primeiramente descrita por Blaxter e Martin, em 1962, e Topps e Elliot, em 1965 (FUJIHARA *et al*., 1987), foi confirmada por outros pesquisadores (PEREZ *et al*., 1996; CHEN *et al*., 1997; RENNÓ *et al*., 2000; ORELLANA BOERO *et al*., 2001; BELENGUER *et al*., 2002; GONZALEZ-RONQUILLO *et al*., 2004), que verificaram que a excreção urinária de DP pode constituir um método simples e não invasivo para estimar a produção de proteína microbiana no rúmen. Assim, o fluxo de N microbiano pode ser calculado a partir da quantidade de purinas absorvidas, que são estimadas a partir da excreção urinária dos DP (CHEN; GOMES, 1992).

No método baseado na excreção de DP considera-se que o fluxo duodenal de ácidos nucléicos é essencialmente de origem microbiana e, após a digestão intestinal dos nucleotídeos de purinas, as bases adenina e guanina são catabolizadas e excretadas proporcionalmente na urina como DP, principalmente alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (PEREZ *et al*., 1996). Segundo Chen e Gomes (1992), na urina de bovinos, apenas alantoína e ácido úrico estão presentes, devido à atividade intensa de xantina oxidase no sangue e nos tecidos, que converte xantina e hipoxantina em ácido úrico antes da excreção.

Nos tecidos dos animais ocorre, em processo contínuo, ciclo no qual os nucleotídeos de purinas são quebrados e re-sintetizados a partir da síntese "de novo" de purinas ou reutilizados como purinas pré-formadas. Durante esse processo, pequena proporção das purinas recicladas é decomposta a hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína, que são excretados na urina. Essa fração de DP, originária dos tecidos do animal, é chamada "endógena". Deve ser ressaltado que a hipoxantina pode ser re-utilizada para a síntese de nucleotídeos de purinas, mas, quando a hipoxantina é oxidada pela xantina oxidase para produzir ácido úrico, esse último não pode ser re-utilizado. Assim, a atividade da xantina oxidase nos tecidos afeta diretamente a produção endógena de derivados de purinas (CHEN *et al*., 2003).

Em princípio, apesar da excreção urinária de DP poder ser utilizada como indicador da síntese de proteína microbiana, alguns fatores utilizados no modelo e que afetam a excreção de DP ainda não estão completamente elucidados (CHEN *et al.*, 2003). Entre eles estão a relação N purina: N total (NP/NT) nos microrganismos ruminais, a recuperação de purinas absorvidas e a excreção de derivados de purinas de origem endógena. Além disso, os dados disponíveis são oriundos de experimentos utilizando ovinos e bovinos europeus, havendo necessidade de estender sua aplicação

a animais zebuínos, que têm considerável importância nos países tropicais (OJEDA *et al.*, 2005).

A excreção endógena, apesar de constituir importante parâmetro na modelagem da excreção de DP (CHEN *et al.*, 2003; GONZALEZ-RONQUILLO *et al.*, 2003), é de difícil avaliação em animais intactos (FUJIHARA *et al.*, 1987), devido a limitações técnicas para eliminar a contribuição dos microrganismos ruminais sob condições fisiológicas normais em ruminantes (CHEN *et al.*, 1990a).

A magnitude da fração endógena não é constante entre espécies, sendo que resultados de Fujihara *et al.* (1987) e de Chen *et al.* (1990b), indicaram excreção endógena três vezes maior em novilhos holandeses do que em cordeiros, alimentados por infusão de ácidos graxos voláteis no rúmen e de proteína (caseína) no abomaso. Chen *et al.* (1990a) atribuíram essas diferenças possivelmente à atividade da enzima xantina oxidase, que está ausente no sangue de ovinos, mas presente em altas concentrações no sangue e outros tecidos de bovinos.

As contribuições endógenas para a excreção de derivados de purinas em vacas holandesas secas estimadas por ORELLANA-BOERO *et al.* (2001) foram de 235 μmol/kg of $PV^{0,75,}$ usando a técnica de diluição de isótopo N^{15}. GONZALEZ-RONQUILLO *et al.* (2003), usando a mesma técnica, estimaram a fração endógena de 512 μmol/kg of $PV^{0,75}$ em vacas holandesas lactantes.

Chen *et al.* (1990a) obtiveram fração endógena de 514 μmol/kg $PV^{0,75}$, utilizando novilhos Holandês X Hereford alimentados por infusão intragástrica, variando de jejum completo até o suprimento dos requerimentos de mantença (450 kJ EM e 435 mg de N-caseina/$kg^{0,75}$. A nutrição intragástrica desenvolvida por Ørskov e colaboradores em 1997 (CHEN *et al.*, 2003), visava possibilitar o completo controle do suprimento de nutrientes ao animal, não havendo fermentação microbiana no rúmen. Entretanto, Orellana Boero *et al.* (2001) sugeriram que a alimentação de animais no nível de mantença seria mais verossímil em termos de termos de condições fisiológicas normais.

Em cruzamentos de *Bos indicus* X *Bos taurus*, Ojeda *et al.* (2005) encontraram fração endógena de 277,3 μmol/$kg^{0,75}$; entretanto os animais foram submetidos a jejum durante cinco dias, método criticado devido ao fato de o jejum prolongado alterar as atividades metabólicas do animal e, portanto, a taxa de degradação de ácidos nucléicos (CHEN; ØRSKOV, 2003).

Para estimar a excreção endógena de DP, a utilização da intercepta do intercepto da equação de regressão linear entre a excreção de derivados de purinas na urina e os níveis de ingestão de matéria seca, não se mostrou um método adequado em ovinos (CHEN *et al*., 1990b), uma vez que a relação entre a excreção de DP e a absorção de purinas não é linear. Entretanto, em bovinos essa relação seria aproximadamente linear (CHEN; GOMES, 1992), possibilitando a aplicação deste.

Pimpa *et al.* (2001), utilizando infusões de bases purinas, nas doses de 10 a 45 mmol/dia, no duodeno de novilhos Kedah-Kelantan, alimentados ao nível de mantença, obtiveram a regressão entre a excreção urinária de DP (Y) e o fluxo duodenal de bases purinas (X), expressos em mmol/dia: $Y = 0,847X + 7,146$ ($r^2 = 0,50$, $P < 0,001$), e sugeriram que 85 % do suprimento exógeno de purinas foi recuperado na urina como derivados de purinas e que 7,15 mmol/dia foi a excreção de DP de origem endógena. Vagnoni *et al*. (1997), utilizando infusão de purinas no abomaso de vacas lactantes e não lactantes alimentadas com 90% do consumo voluntário, obtiveram a regressão entre a excreção de DP (Y) e fluxo abomasal de purinas (X): $Y = 0,856X + 103$ ($r^2 = 0,93$). Os autores consideraram que 86 % das purinas que atingiram o omaso foram excretados como derivados de purinas, não fazendo, contudo, nenhuma referência a perdas endógenas.

Para imprimir ampla faixa de variação da síntese de microbiana no rúmen, Gonzalez-Ronquillo *et al.* (2004) manipularam a ingestão de matéria seca de vacas lactantes de 75 a 100 % da ingestão voluntária. A ampliação da excreção urinária de DP, de 266,5 a 314,0 mmol/dia, refletiu as diferenças produzidas pelos tratamentos.

Na maioria dos trabalhos de pesquisa no Brasil utiliza-se o valor de 385 $\mu mol/kg^{0,75}$ citado por Chen e Gomes (1992) como perdas endógenas de purinas. No entanto, faltam informações desses valores para animais Nelores. Considerando que essas perdas endógenas são subtraídas da excreção total de purinas para estimar a produção de proteína microbiana, a aplicação de valores inadequados pode resultar em produção microbiana sub ou superestimada.

O NRC (2001) adotou uma equação para corrigir o NDT dos alimentos fornecidos à vontade, baseando-se no fato de que a digestibilidade é reduzida com o aumento do consumo. Contudo, para gado de corte essa redução é pouco conhecida e, especificamente, para animais Nelore não foi encontrada na literatura nacional consultada. Costa (2002) sugeriu que os valores de NDT obtidos para o nível de mantença deveriam ser multiplicados por 0,95 para transformar em consumo

voluntário. Porém, esses dados foram obtidos em bovinos Holandeses. Assim, nessa pesquisa também foram avaliados os teores de NDT utilizando novilhas Nelores alimentadas com dietas fornecidas desde a mantença até o consumo voluntário.

Dessa forma, o presente trabalho foi conduzido, envolvendo dois experimentos utilizando animais da raça Nelore alimentados com dieta única em diferentes ofertas ou alimentados no nível de mantença, recebendo infusão abomasal de RNA como fonte de purinas, com os objetivos de quantificar a contribuição endógena para a excreção urinária de derivados de purinas; estabelecer a proporção de purinas no abomaso recuperadas na urina; verificar o efeito do nível de consumo sobre a produção microbiana e avaliar o efeito do nível de consumo sobre o valor energético das dietas.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELENGUER, A. *et al*. Urinary excretion of purine derivatives and prediction of rumen microbial outflow in goats. **Livestock Production Science**, v. 77, p. 127-135, 2002.

CHEN, X. B. *et al*. Response of urinary and plasma purine derivates to various rates and infusion patterns of purines in sheep nourished by intragastric infusion. **Journal of Agricultural Science**, v. 129, p. 343-352, 1997.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. **International feed research Unit**. Rowett Research Institute, Aberdeen, UK. 1992. 21 p. (Occasional publication).

CHEN, X. B.; MATHIESON, F. D. D. H.; REEDS, P. J. Measurements of purine derivates in urine of ruminants using automated methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 53, n. 1, p. 23-33, 1990a.

CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, preset and future. **International Feed Resources Unit,** Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdon. 2003.

CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R.; HOVELL, F. D. D. Excretion of purine *derivatives* by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 63, n. 1, p. 121-129, 1990b.

COSTA, M. A. L. **Desempenho de novilhos zebuínos e validação das equações do NRC (2001) para predizer o valor energético dos alimentos nas condições brasileiras**. 2002. 80 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

FUJIHARA, T. *et al.* The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, n. 1, p. 7-12, 1987.

GONZALEZ-RONQUILLO, M. *et al.* A comparison of purine *derivatives* excretion with conventional methods as indices of microbial yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 2211-2221, 2004.

GONZALEZ-RONQUILLO, M. *et al.* Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1282-1291, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7. ed. Washington, DC: National Academic Press, 1996. 242 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C: National Academic Press, 2001. 381 p.

OJEDA, A. et al. Urinary excretion of purine in *Bos indicus* x *Bos Taurus* crossbred cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 93, p. 821-828, 2005.

ORELLANA BOERO, P. et al. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 243-250, 2001.

PEREZ, J. F. et al. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ^{15}N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p. 699-709, 1996.

PIMPA, O. *et al.* Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah-Kelantan cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 92, p. 203-214, 2001.

RENNÓ, L. N. *et al.* Estimativa da produção de proteína pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 29, n. 4, p. 1223-1234, 2000.

VAGNONI, D. B. *et al.* Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p.1695-1702, 1997.

VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. Teores de proteína em dietas de vacas de leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GADO DE LEITE, 2., 2001. Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2001.

Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas em bovinos Nelore alimentados com dieta única em diferentes ofertas de matéria seca

Resumo: Objetivou-se avaliar a fração endógena da excreção urinária de derivados de purinas (DP), estabelecer a proporção de purinas no abomaso recuperadas como DP na urina e verificar o efeito do nível de consumo sobre a produção microbiana (Nmic) em bovinos Nelore alimentados com dieta única em diferentes níveis de oferta de matéria seca (MS). Utilizaram-se 8 novilhas com pesos médios de 258 ± 20 kg, alojadas em baias individuais, fistuladas no rúmen e abomaso, sendo quatro destas fistuladas adicionalmente no íleo, distribuídas em dois quadrados latinos 4 x 4, balanceados para efeito residual. Os tratamentos foram constituídos de quatro níveis de oferta da MS 1,2; 1,6; 2,0 e 2,4 % do peso vivo (PV). As perdas endógenas e a recuperação de bases purinas como derivados de purinas foram estimadas por regressão entre a excreção diária dos derivados de purinas na urina (Y) e as bases purinas no abomaso (X), expressas em mmol/kg^{0,75}, representadas, respectivamente, pela intercepta e pelo coeficiente da regressão. As perdas endógenas também foram avaliadas pela regressão entre a excreção de DP, em mmol/kg^{0,75}, e o consumo de MS, em g/kg^{0,75}. O coeficiente de digestibilidade aparente no intestino delgado (ID) do RNA não foi afetado ($P > 0,05$) pelos níveis de oferta de MS da dieta, obtendo-se valor médio de 75,63 %. A digestibilidade verdadeira de 92,78% ($P < 0,0001$), foi obtida pela regressão entre a quantidade de RNA absorvida (Y) em função do fluxo de RNA no abomaso (X), expressos em mmol/kg^{0,75}. A relação média de N-RNA: N-total nas bactérias ruminais isoladas foi de 0,1369. O fluxo diário de RNA (RNA Abo) e a produção microbiana (Nmic Abo) no abomaso em função do nível de oferta de MS da dieta apresentaram comportamento quadrático, estimando-se valores máximos de 1,50 mmol/kg^{0,75} e 55,20 g Nmic, respectivamente, para os níveis de oferta de MS de 2,43 e 2,45 % do PV. A excreção urinária diária de DP, em mmol/kg^{0,75}, aumentou linearmente ($P < 0,05$) com o nível de oferta de MS da dieta. Quando a excreção de derivados de purinas, expressa em mmol/dia, foi relacionada com o consumo de NDT, kg/dia, observou-se que houve excreção ($P<0,0001$) de 32,15 mmol para cada kg de NDT consumido. Considerando o consumo de MS expresso em g/kg^{0,75} e a excreção de DP em mmol/kg^{0,75}, obteve-se a regressão ($P < 0,001$): $Y = 0,0196X + 0,2421$, sendo que o valor de 0,2421 mmol/kg^{0,75,} ou 0,24 mmol/kg^{0,75}, representa a excreção endógena de DP. A excreção diária de derivados de purinas, mmol/kg^{0,75}, em função do fluxo de RNA no abomaso, mmol/kg^{0,75,} se ajustou à regressão ($P < 0,0001$), $Y = 0,8601x + 0,4603$ ($R^2 = 0,661$) onde 0,86 representa a recuperação das purinas como derivados na urina e o valor de 0,4603 mmol/kg^{0,75} representa a fração endógena. A produção microbiana estimada pelos derivados de purinas na urina, expressa em g N/dia, em função do nível de oferta de MS da dieta, apresentou regressão linear ($P < 0,05$), estimando-se aumentos de 22,80 g Nmic por 1% de oferta de MS. Conclui-se que diferentes métodos resultaram em estimativas de 0,46 mmol/kg^{0,75} e de 0,24 mmol/kg^{0,75,} para a excreção endógena de derivados de purinas em bovinos Nelore; que a recuperação das purinas absorvidas como derivados na urina foi de 0,86 e que a digestibilidade verdadeira do RNA no ID, de 0,93, é maior do que o valor assumido na literatura para o cálculo de produção microbiana.

Palavras-chave: derivados de purinas; contribuição endógena; nível de ingestão.

Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives in Nelore cattle fed single diet with diffe rent levels of dry matter offer

Abstract: The objectives of this work were: to evaluate the endogenous fraction of urinary excretion of purine derivatives (DP); to establish the proportion of purines into abomasum recovered from urine and; to verify the level of consumption upon microbial production (Nmic) in Nelore cattle fed single diet with different levels of dry matter (MS) offer. It was used 8 heifers with average weight of 258 ± 20 kg, accomodated in individual stalls, fistulated at rumen and abomasum, being four of those fistulated additionally at the ileum. The experiment was design in 2 balanced latin squares 4 x 4. Treatments constituted of four levels of MS offer 1.2, 1.6, 2.0 and 2.4 % of live weight (PV). Endogenous losses and recovery of purine bases as purine derivatives were estimated by regression between daily excretion of purine derivatives in urine (Y) and the purine bases in abomasum (X), expressed in mmol/kg$^{0.75}$, represented respectively by the intercept and the regression coefficient. Endogenous losses were also evaluated by the regression between excretion of DP, in mmol/kg$^{0.75}$, and intake of MS, in g/kg^{0,75}. Apparent digestibility coefficient of RNA in ID was not affected (P > 0.05) by the levels of MS offered in diet, and an average value of 75,63 % was obtained. True digestibility of 92.78 % (P > 0.0001), was obtained by the regression between the amount of RNA absorbed (Y) as a function of the flux of RNA into abomasum (X), expressed in mmol/kg$^{0.75}$. The mean relation of N-RNA:N-total in isolated ruminal bacteria was 0,1369. Daily flux of RNA (RNA Abo) and microbial production (Nmic Abo) into abomasum as a function of the level of MS offer in diet presented quadratic behavior, estimating maximum values of 1.50 mmol/kg$^{0.75}$ and 55.20 g Nmic, respectively for the levels of MS offer 2.43 and 2.45 % of PV. Daily urinary excretion of DP, in mmol/kg$^{0.75}$, increased linearly (P > 0.05) with the level of MS offered in diet. When the excretion of purine derivatives, expressed in mmol/day, was related with the NDT intake, kg/day, it was observed that there were excretion (P > 0.0001) of 32.15 mmol for each kg of NDT consumed. Considering MS intake expressed in g/kg$^{0.75}$ and the excretion of DP in mmol/kg$^{0.75}$, a regression was obtained (P < 0.001): Y = 0.0196x + 0.2421, where the value of 0.2421 mmol/kg$^{0.75}$ or 0.24 mmol/kg$^{0.75}$, represent the endogenous excretion of DP. Daily excretion of purine derivatives, mmol/kg$^{0.75}$, as a function of RNA flux into abomasum, mmol/kg$^{0.75}$, was adjusted to the regression (P < 0.0001), Y = 0.8601x + 0.4603 (R^2 = 0.661) where 0.86 represent the recovery of purines as derivatives in urine and the value of 0.4603 mmol/kg^{0,75} represent the endogenous fraction. Microbial production estimated by purine derivatives in urine, expressed in g N/day, as a function of the level of MS offer in diet, presented linear regression (P > 0.05), estimating increases of 22.80 g Nmic per 1 % of MS offered. It is concluded that different methods resulted in estimatives of 0.46 mmol/kg$^{0.75}$ and 0.24 mmol/kg$^{0.75}$ for endogenous excretion of purine derivatives in Nelore cattle; the recovery of purines absorbed as derivatives in urine was 0.86 and; the true digestibility of RNA in ID 0.93 is higher than the value assumed in literature for calculation of microbial production.

Key words: purine derivatives, endogenous contribution, level of intake.

Introdução

Em ruminantes, o aporte de aminoácidos no duodeno é originário da proteína microbiana sintetizada no rúmen e da proteína do alimento não foi degradada no rúmen, sendo que a proteína microbiana pode suprir de 50 a 100 % da proteína metabolizável exigida para bovinos de corte (NRC, 1996).

Contudo, a ausência de métodos simples, precisos e exatos para estimar a produção de proteína microbiana tem sido limitante ao progresso no entendimento da síntese de proteína microbiana (CHEN; GOMES, 1992). A necessidade de desenvolvimento de técnicas não invasivas na experimentação animal favoreceu a utilização da excreção de derivados de purinas (DP) na urina como método para a quantificação da produção de proteína microbiana como alternativa às determinações utilizando animais fistulados; entretanto, permanecem desafios a serem elucidados.

No método baseado na excreção de DP assume-se que o fluxo duodenal de ácidos nucléicos é essencialmente de origem microbiana e, após a digestão intestinal dos nucleotídeos de purinas, as bases adenina e guanina são catabolizadas e excretadas proporcionalmente na urina como DP, principalmente alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (PEREZ *et al*., 1996). No entanto, na urina de bovinos, apenas alantoína e ácido úrico estão presentes, devido à atividade intensa de xantina oxidase no sangue e nos tecidos, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico antes da excreção (CHEN; GOMES, 1992).

Para estimar a fração endógena da excreção de DP, a utilização do intercepto da equação de regressão linear da excreção de derivados de purinas na urina sobre ingestão de MS em vários níveis não é um método apropriado em ovinos (CHEN *et al*. 1990b), uma vez que a relação entre a excreção de DP e a absorção de purinas não é linear. Entretanto, em bovinos essa relação é linear (CHEN; Gomes, 1992), possibilitando a aplicação deste.

Na maioria dos trabalhos de pesquisa no Brasil utiliza-se o valor de 385 $\mu mol/kg^{0,75}$ citado por Chen e Gomes (1992) como perdas endógenas de purinas. No entanto, faltam informações desses valores para animais Nelores. Considerando que essas perdas endógenas são subtraídas da excreção total de purinas para quantificar a produção de proteína microbiana, aplicação de valor inadequado pode resultar em produção microbiana sub ou superestimada.

Dessa forma, o presente trabalho foi conduzido utilizando animais da raça Nelore alimentados com dieta única em diferentes níveis de oferta de matéria seca com os objetivos de quantificar a contribuição endógena para a excreção urinária de derivados de purinas, estabelecer a proporção de purinas no abomaso recuperadas na urina e verificar o efeito do nível de consumo sobre a produção microbiana.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Foram utilizadas oito novilhas da raça Nelore, com peso inicial de aproximadamente 258 ± 20 kg, fistuladas no rúmen e abomaso, sendo quatro destas fistuladas adicionalmente no íleo, segundo técnicas descritas por Leão e Coelho da Silva (1980). Os animais foram mantidos em confinamento no Laboratório de Animais (DZO/UFV), alojados em baias individuais, cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, com área de 9 m^2 e dotadas de comedouros de alvenaria e bebedouros individuais.

As dietas, à base de silagem de milho e concentrado nas proporções de 60 e 40 % com base na matéria seca (MS), respectivamente, foram oferecidas nos níveis de 1,2, 1,6, 2,0 e 2,4 % do peso vivo (PV), constituindo os tratamentos experimentais. As rações foram balanceadas de acordo com o NRC (1996), para conter aproximadamente 12% de proteína bruta (PB), com base na MS. A composição química do concentrado, da silagem e da dieta se encontram na Tabela 1.

Foi utilizado delineamento em quadrado latino, sendo os animais distribuídos em dois QL 4 x 4, balanceados para efeito residual, com quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos experimentais para cada QL.

Os períodos experimentais tiveram a duração de 14 dias, sendo os primeiros sete dias para adaptação dos animais ao nível de ingestão, do oitavo ao 13º dia para coletas de amostras de digesta de abomaso e coletas totais de fezes e de urina e o 14º dia para coleta de amostras de líquido e de conteúdo de rúmen.

Tabela 1 – Composição química do concentrado, da silagem de milho e da dieta

	Silagem	Concentrado[1]	Dieta
MS	27,29	88,00	51,57
MO[2]	92,79	98,53	95,09
PB[2]	6,80	19,47	11,87
EE[2]	2,25	3,67	2,82
FDNcp[2]	57,40	13,40	39,80
CNF[2]	26,35	64,37	41,56

MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDNcp- fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; e CNF = carboidratos não fibrosos.

[1] Proporção dos ingredientes no concentrado (% MN): fubá de milho, 75,54; farelo de soja, 21,04; uréia/SA, 1,21; M. mineral, 2,21 %. [2] Percentagem na matéria seca da dieta.

A ração total foi fornecida duas vezes ao dia, às 8 e 16 horas. Diariamente, do 8º ao 14º dia, foram quantificados e amostrados a silagem e o concentrado fornecidos e as sobras de cada animal. Ao final de cada período, foram efetuadas amostras compostas das sobras por animal, que foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para análises posteriores.

Do 8º ao 13º dia foi feita coleta total de fezes de cada animal. Ao término de cada período de 24 horas de coleta, as fezes foram pesadas, homogeneizadas e alíquotas de aproximadamente 300 g foram obtidas. A amostra composta de fezes de cada animal por período foi obtida após a secagem em estufa ventilada a 60° C e a moagem em moinho com peneira de 1 mm, em uma quantidade de aproximadamente 10 % do peso total da excreção fecal diária.

As coletas de amostras de digestas de abomaso e de íleo foram realizadas a intervalos de 22 horas, iniciando-se às 18 horas do 8º dia até as 8 horas do 13º dia. Imediatamente após a coleta, as amostras foram secas em estufa ventilada (60° C) e moídas em moinho com peneira de 1 mm, elaborando-se amostra composta para cada animal no período, com base no peso pré-seco de cada amostra.

Do 8º ao 13º dia foi feita a coleta total de urina de cada animal, utilizando-se cateteres de Folley nº 22, duas vias, com balão de 30 mL. Na extremidade livre do cateter foi adaptada mangueira de polietileno, pela qual a urina foi conduzida até recipientes de plástico com tampa, contendo 200 mL de H_2SO_4 (20 %) visando manter o pH final da urina abaixo de 3. Ao término de cada período de 24 horas de coleta, a urina foi pesada e homogeneizada, sendo obtidas amostras de 10 mL que foram

diluídas com 40 mL de H_2SO_4 0,036 N e de 50 mL sem diluição. Todas as amostras foram armazenadas a -20° C.

Para avaliação do pH e da concentração de amônia ($N\text{-}NH_3$) ruminal, foram realizadas, no 14º dia do período experimental, coletas de líquido ruminal imediatamente antes do fornecimento da dieta e 2, 4 e 6 horas após o fornecimento da mesma. As amostras foram tomadas na região de interface líquido/ sólido do ambiente ruminal e filtradas em camada tripla de gaze. Uma alíquota de 50 mL foi adicionada de 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) e acondicionada em frasco de polietileno, identificada e congelada a -20ºC para posterior quantificação da concentração de $N\text{-}NH_3$. Os teores de N amoniacal no líquido ruminal foram avaliados pelo sistema micro-Kjeldahl, sem digestão ácida da amostra, utilizando-se como base para destilação o hidróxido de potássio (2 N), após centrifugação da amostra a 1.000 x g, por 15 minutos. O pH foi medido imediatamente após as coletas através de potenciômetro digital. Nos mesmos horários foram efetuadas as coletas de conteúdo ruminal para o isolamento de bactérias.

Para o isolamento microbiano, aproximadamente um litro de conteúdo de rúmen de cada animal foi coletado via fístula ruminal, seguindo os procedimentos descritos por Cecava *et al.* (1990). Ao final do período, foi construída uma amostra composta por animal. Para estimar a produção de biomassa microbiana que chega ao abomaso foram utilizadas as bases purinas, quantificadas conforme por Zinn e Owens (1985). A quantidade de compostos nitrogenados microbianos que chegou ao abomaso e íleo foi calculada através do fluxo de N-RNA presente no abomaso e íleo dividido pela relação N-RNA: N-total nos microrganismos isolados do rúmen.

A FDNi foi utilizada como indicador interno para estimação do fluxo de digesta no abomaso e no íleo. Os fluxos de MS abomasal e ileal foram obtidos, respectivamente, pela relação entre o consumo e a concentração de FDNi.

Análises para quantificação dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), compostos nitrogenados (N), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente neutro (FDN) foram efetuadas nas amostras de silagem, concentrado, sobras, digestas de abomaso e de íleo e fezes, conforme Silva e Queiroz (2002), sendo o teor de proteína bruta (PB) obtido pela multiplicação do N pelo fator 6,25. A FDNi foi obtida após incubação das amostras em sacos de TNT (100g/m2) no rúmen de bovinos fistulados, durante 144 horas. Os CNF foram obtidos segundo Hall (2000): CNF = 100 – [(%PB - %PBureia + %ureia) + %FDNcp + %EE + %cinzas].

As análises de alantoína na urina foram feitas por método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara *et al*. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992). Para a quantificação de ácido úrico na urina foi utilizado o sistema enzimático por reação de ponto final seguindo o princípio uricase – reação de Trinder, utilizando-se kits comerciais da marca Labtest Diagnóstica S.A. (ref.: 73). Ambas as análises de urina foram efetuadas nas amostras diluídas, pois esta evita destruição bacteriana dos derivados de purinas urinários e precipitação do ácido úrico.

A excreção dos derivados de purinas na urina foi calculada pela soma das excreções de alantoína e de ácido úrico, que foram obtidas multiplicando-se as respectivas concentrações pelo volume urinário diário. A produção de N-microbiano a partir da excreção de derivados de purinas foi estimada segundo Chen e Gomes (1990).

As perdas endógenas e a recuperação de bases purinas como derivados de purinas foram estimadas através da equação de regressão linear simples entre a excreção diária dos derivados de purinas na urina (Y) e as bases purinas no abomaso (X), expressas em mmol/$kg^{0,75}$, representadas, respectivamente, pelo intercepto e pelo coeficiente de inclinação da equação. As perdas endógenas também foram avaliadas pelo ajuste do modelo de regressão linear simples entre a excreção de DP, em mmol/$kg^{0,75}$, e o consumo de MS, em g/$kg^{0,75}$.

A digestibilidade verdadeira foi obtida pela equação de regressão simples entre a quantidade de RNA absorvida no intestino (Y) em função do fluxo de RNA no abomaso (X), expressos em mmol/$kg^{0,75}$.

Os resultados foram avaliados por intermédio do procedimento PROC MIXED SAS (SAS, 1999), adotando-se 0,05 % como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I, sendo as comparações entre médias realizadas através de contrastes ortogonais e as respectivas equações de regressão geradas pelo PROC REG SAS (SAS, 1999).

Resultados e Discussão

A partir da Tabela 2, em que são apresentadas as médias de consumo verifica-se que, apesar de ter sido obtida faixa de variação de consumo de MS de 1,16 até 1,84 % do peso vivo (PV), não foi atingido o máximo planejado de 2,4 % PV.

Observa-se que os consumos de MO, PB, EE, FDN, CNF e de NDT também foram progressivamente aumentados com os níveis de oferta de MS da dieta

(Tabela 2). Este aumento acompanhou o perfil observado para o consumo de MS e está de acordo com o planejamento experimental, uma vez que se pretendeu estabelecer uma faixa de variação de consumo para avaliar a respectiva produção microbiana. Este método foi utilizado, além de outros autores, por Gonzalez-Ronquillo *et al.* (2004) que manipularam a ingestão de matéria seca de vacas lactantes de 75 a 100 % da ingestão voluntária para imprimir faixa ampla de variação da síntese microbiana ruminal.

Tabela 2 – Médias e erro padrão da média (s) dos consumos de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de para os níveis de oferta de matéria seca (OMS)

Item	Níveis de oferta de MS da dieta (% peso vivo)				
	1,2	1,6	2,0	2,4	s
	Consumo (kg/dia)				
MS	2,98	3,75	4,54	4,77	0,2140
MO	2,84	3,57	4,31	4,54	0,1995
PB	0,35	0,44	0,55	0,55	0,0335
EE	0,084	0,108	0,134	0,152	0,0046
FDNcp	1,20	1,54	1,82	1,99	0,0662
CNF	1,20	1,48	1,80	1,84	0,1239
NDT	2,27	2,76	3,35	3,48	0,1960
	Consumo (% peso vivo)				
MS	1,16	1,46	1,76	1,84	0,0688
FDNcp	0,47	0,60	0,71	0,77	0,0227

Como visualizado na Tabela 3, os coeficientes de digestibilidade aparente total da MS e da MO variaram linearmente ($P < 0,05$) com os níveis de oferta de MS da dieta, havendo redução de 2,17 e 2,21 % para cada 1 % do PV, respectivamente. A redução da digestibilidade de dietas em função do aumento do consumo foi descrita para vacas por diversos autores (VAN SOEST, 1994; NRC, 2001), sendo que Leão *et al.* (2004) relataram redução de 2,027 unidades percentuais no coeficiente de digestibilidade da MS para cada 1% de aumento no nível de oferta, para novilhos mestiços. Para novilhos holandeses com peso vivo inicial de 270 kg, Costa (2002) sugeriu que os valores de NDT obtidos para o nível de mantença deveriam ser multiplicados por 0,95 para transformar em consumo voluntário.

Tabela 3 – Médias e erro padrão da média (s) dos coeficientes de digestibilidades aparente total e ruminal da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF) e teores de nutrientes digestíveis totais na dieta (NDT) para os níveis de oferta de MS (OMS)

Item	Níveis de oferta de MS da dieta (% peso vivo)				S	Efeito[3]		
	1,2	1,6	2,0	2,4		L	Q	C
Digestibilidade (%)								
MS	73,99	71,12	71,63	70,66	1,48	0,0457	0,3455	0,2851
MO	76,71	73,80	74,39	73,31	1,43	0,0295	0,3305	0,2201
PB	67,52	66,23	66,54	65,88	1,97	0,4784	0,8301	0,6908
EE	89,14	88,01	89,38	86,86	1,61	0,3997	0,6259	0,3261
FDN	66,24	63,12	62,94	62,63	1,93	0,0523	0,2506	0,5679
CNF	89,22	86,55	87,55	85,96	1,68	0,0878	0,6249	0,2151
NDT	76,11	73,43	73,94	73,44	1,62	0,0825	0,2465	0,3184
Digestibilidade Ruminal (%)								
MS[1]	68,90	66,70	58,37	66,18	4,22	0,1342	0,0473	0,0481
MO[1]	72,06	72,48	63,34	70,86	3,73	0,2634	0,1673	0,0288
PB[2]	29,46	34,05	27,91	29,37	6,14	0,6671	0,6393	0,2276
EE[2]	54,32	54,40	57,44	55,73	11,75	0,7707	0,8727	0,7582
FDN[1]	88,26	90,02	85,52	89,89	3,65	0,9663	0,5128	0,1007
CNF[1]	68,40	65,80	54,08	63,99	4,78	0,1614	0,1190	0,0888
Regressões								R^2
$Y_{DMS} = 75,8086 - 2,1690*OMS$								19,96
$Y_{DMO} = 78,5816 – 2,2081*OMS$								23,31
$Y_{DRMS} = -137,53 + 393,25*OMS – 239,42OMS^2 + 45,89\ OMS^3$								38,97
$Y_{DRMO} = -199,05 + 500,84*OMS - 295,51\ OMS^2 + 55,34\ OMS^3$								33,46

[1] % do total digestível; [2] % da quantidade que chegou ao local; [3] L = linear; Q = quadrático; e C = cúbico. DRMS = digestibilidade ruminal da MS; e DRMO = digestibilidade ruminal da MO.

Os coeficientes de digestibilidade aparente total da PB, EE, FDN e CNF não foram afetados (P > 0,05) pelo nível de oferta de MS da dieta, obtendo-se médias de 66,79, 88,35, 63,73 e 87,32, respectivamente (Tabela 3). Essa ausência de efeito se contrapõe à observação de que houve aumento nos consumos de PB, EE, FDN e CNF, o que provavelmente reduziria a digestibilidade destes componentes, conforme descrito por alguns autores (VAN SOEST, 1994; NRC, 2001; LEÃO *et al.*, 2004; 2005; VÉRAS *et al.*, 2008).

Leão *et al*. (2004) observaram comportamento linear decrescente para a digestibilidade da PB em função dos níveis de oferta de MS da dieta, que variou de 72,4 a 77,6 %, valores superiores aos do presente trabalho. Os mesmos autores não

encontraram efeito para a digestibilidade do EE, sendo em média 76,3%, inferior ao observado no atual experimento.

O valor médio para o coeficiente de digestibilidade total da FDN de 63,73% foi superior ao relatado por Véras *et al.* (2008), de 43,79 %, trabalhando com novilhas Nelore alimentadas com dietas à base de silagem de milho e dois níveis de concentrado (25 e 50%). Ladeira *et al.* (1999a) observaram, para novilhos Nelore, efeito quadrático dos níveis de concentrado da dieta (25,0, 37,5, 50,0, 62,5 e 75,0 %) sobre a digestibilidade total da FDN, estimando valor mínimo de 53,69 % para o nível de 56,05 % concentrado.

A média estimada para a digestibilidade total do CNF de 87,32 % está abaixo do valor descrito por Dias *et al.* (2000a), de 92,1 %, para o nível de 37,5 % de concentrado na ração de novilhos F1 Limousin X Nelore. Véras *et al.* (2008) verificaram que a digestibilidade total do CNF diminuiu de 93,19 para 75,60 % ($P < 0,05$) nas dietas com 25 e 50 % de concentrado, respectivamente.

O teor de NDT não foi afetado ($P > 0,05$) pelo nível de oferta de MS da dieta, obtendo-se média de 74,15 %. Essa ausência de efeito ($P > 0,05$) é contrária à conclusão de Leão *et al.* (2004) de que o teor de NDT diminuiu com o aumento do nível de oferta de MS da dieta e à recomendação do NRC (2001), que propõe a correção do teor de NDT em função do nível de consumo acima da mantença. Contudo, numericamente, observa-se decréscimo no teor de NDT com o aumento do consumo (76,11 para 73,44 %) correspondendo a uma queda de 3,5 % da menor para a maior oferta de MS, estando próximo do valor de 5% obtido por Costa (2002) ao comparar ofertas livre e restrita (mantença).

A digestibilidade ruminal da MS apresentou contraste cúbico significativo ($P < 0,05$), entretanto, este perfil de comportamento é de difícil aplicação ao evento biológico. Por outro lado, Leão *et al*. (2004) não observaram efeito do nível de oferta de MS sobre a digestibilidade ruminal da MS, obtendo média de 73,2 %, superior à verificada na Tabela 3. As digestibilidades ruminais da MO, PB, EE, FDN e CNF não foram afetadas ($P > 0,05$) pelo nível de ingestão, apresentando médias de 71,26, 30,20, 55,47, 88,42 e 63,07, respectivamente. A média estimada para a digestibilidade ruminal da MO no presente trabalho se situa entre os valores de 65,81% e 81,6 %, citados respectivamente por Leão *et al.* (2004) e Véras (2006). Por outro lado, Leão *et al.* (2004) descreveram média de 21,4 % para digestibilidade ruminal da PB, valor este inferior ao encontrado neste trabalho. A digestibilidade ruminal do EE apresentou

média consideravelmente superior às citadas na literatura, já que Tibo *et al*. (2000), Dias *et al*. (2000a) e Leão *et al*. (2004) descreveram médias negativas para essa variável, -17,9, -24,6 e -7,79, respectivamente. O coeficiente de digestibilidade ruminal da FDN apresentou valor superior ao encontrado por Véras *et al*. (2008), 80,21 %, porém, os CNF apresentaram média de digestibilidade ruminal inferior à relatada pelos mesmos autores, de 88,9 %, para fêmeas Nelore alimentadas com dietas constituídas de dois níveis de concentrado.

Zinn e Owens (1983) observaram efeito linear negativo do nível de ingestão sobre a digestibilidade ruminal da MO em novilhos Angus alimentados com dietas compostas de 80 % de concentrado, descrevendo valores de 59,0 e 48,8 % de DRMO para os níveis de consumo de 1,2 e 2,1 % PV.

A partir dos animais fistulados adicionalmente no íleo, foram estimados os coeficientes de digestibilidades aparentes intestinais, que são apresentadas na Tabela 4 e, para efeito de maior clareza, foram acrescentados os dados de digestibilidade ruminal observados para este grupo de animais. Observa-se que não houve efeito ($P > 0,05$) do nível de oferta de MS da dieta sobre as digestibilidades ruminais da MS, MO, PB, EE, FDN e CNF, conforme os resultados observados, quando foram considerados todos os animais experimentais, com exceção da MS.

No intestino delgado (ID), os coeficientes de digestibilidade aparentes da MS, MO, EE e FDN apresentaram efeitos quadráticos significativos em função do nível de oferta de MS, obtendo-se estimativas máximas de digestibilidades de 36,26, 33,25, 84,80 e 9,25 %, correspondentes aos níveis de oferta de 1,92, 1,94, 2,06 e 1,78, respectivamente. Por outro lado, os coeficientes de digestibilidade aparentes no ID referentes à PB e ao CNF não foram afetados ($P > 0,05$), obtendo-se médias de 54,64 e 35,06. Leão *et al*. (2004) relataram valores médios de digestão intestinal da MS e MO, de 26,8 e 18,4 %, respectivamente, não encontrando efeito significativo dos níveis de oferta de MS na dieta; por outro lado, descreveram relação linear decrescente para digestibilidade intestinal da PB, variando de 67,6 a 64,2 % e do EE 80,6 a 74,5 %. O valor médio de 54,64 % obtido neste trabalho para a digestibilidade intestinal da PB pode ser considerado baixo, em relação ao valor de 66 % obtido por Leão *et al*. (2004). Analisando os dados da digestibilidade intestinal da FDN, que variaram de -5,62 a 8,64, verifica-se que o valor médio foi aproximadamente de 2,7 %, o que indica que os fluxos de MS foram estimados adequadamente pela FDNi.

Tabela 4 – Médias e erro padrão da média (s) dos coeficientes de digestibilidades aparentes ruminal e intestinal da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF) e digestibilidade intestinal de RNA de novilhas Nelore, fistuladas adicionalmente no íleo, para os níveis de oferta de MS (OMS)

Item	Níveis de oferta de MS da dieta (% peso vivo)				s	Efeitos[1]		
	1,2	1,6	2,0	2,4		L	Q	C
Digestibilidade Ruminal (%)								
MS	73,37	68,34	61,90	69,52	4,33	0,2380	0,0850	0,3033
MO	75,50	72,26	66,75	75,12	4,57	0,7048	0,1706	0,3700
PB	37,84	35,60	32,54	36,21	4,33	0,6964	0,5207	0,7099
EE	68,63	60,45	66,54	69,25	6,65	0,7406	0,3306	0,4722
FDN	89,82	89,78	91,08	94,95	1,97	0,1054	0,3563	0,8937
CNF	69,69	64,93	55,26	67,35	7,73	0,5657	0,2194	0,3695
Digestibilidade Intestino Delgado (%)								
MS	21,46	29,49	39,27	24,95	4,36	0,2775	0,0257	0,1783
MO	17,58	25,34	37,36	22,44	4,51	0,1905	0,0306	0,1342
PB	48,95	56,90	57,25	55,47	4,77	0,3344	0,2952	0,7830
EE	57,79	78,27	83,70	77,97	6,03	0,0088	0,0146	0,8300
FDN	0,21	7,52	8,64	-5,62	2,69	0,0884	0,0010	0,2974
CNF	23,86	31,03	51,51	33,86	7,10	0,1631	0,1313	0,1564
RNA	69,84	76,52	79,19	76,97	3,52	0,1733	0,2486	0,9562
Digestibilidade Intestino Grosso (%)								
MS	5,16	2,17	-1,17	5,53	2,77	0,8078	0,0500	0,2855
MO	6,92	2,40	-4,11	2,44	2,63	0,1080	0,0579	0,2050
PB	-11,31	-30,05	-14,03	-18,31	17,26	0,9351	0,6005	0,3829
EE	-6,99	-110,83	-196,34	-80,65	67,20	0,2467	0,0856	0,4729
FDN	9,97	2,70	0,28	10,67	3,59	0,9832	0,0343	0,6023
CNF	6,44	4,04	-6,78	-1,21	3,46	0,0717	0,2935	0,1600
Regressões								R^2
	$Y_{DMSID} = -77,74 + 118,74*OMS - 30,92*OMS^2$							63,98
	$Y_{DMOID} = -86,18 + 123,30*OMS - 31,77*OMS^2$							64,00
	$Y_{DEEID} = -68,44 + 148,92*OMS - 36,18*OMS^2$							81,25
	$Y_{DFDNID} = -79,39 + 99,76*OMS - 28,07*OMS^2$							87,20
	$Y_{DFDNIG} = 80,33 - 86,51*OMS + 23,43*OMS^2$							55,92

[1] L = linear; Q = quadrático; e C = cúbico. DMSID = digestibilidade da MS no intestino delgado; DMOID = digestibilidade da MO no intestino delgado; DEEID = digestibilidade do EE no intestino delgado; DFDNID = digestibilidade da FDN no intestino delgado; e DFDNIG = digestibilidade da FDN no intestino grosso.

No intestino grosso, houve efeito quadrático ($P < 0,05$) dos níveis de oferta de MS da dieta sobre o coeficiente de digestibilidade da FDN, enquanto os da MS, MO, PB, EE, e CNF não foram afetados ($P > 0,05$), sendo em média, respectivamente 2,92,

1,91, -18,42, -98,70 e 0,62 %. A digestibilidade média da MS no IG foi inferior às observadas por Ladeira *et al*. (1999a), variando de 9,53 a 19,26 % para animais Nelore alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado.

O coeficiente de digestibilidade aparente no ID do RNA não foi afetado ($P > 0,05$) pelos níveis de oferta de MS da dieta, obtendo-se valor médio de 75,63 % (Tabela 4). A digestibilidade verdadeira de 92,78 % ($P < 0,0001$), obtida pela regressão entre a quantidade de RNA absorvida (Y) em função do fluxo de RNA no abomaso (X), expressos em mmol/kg^{0,75}, (Figura 1) foi superior ao valor assumido por Chen e Gomes (1992), de 83 %, para o cálculo da produção microbiana (g Nmic/dia) a partir da excreção de derivados de purinas.

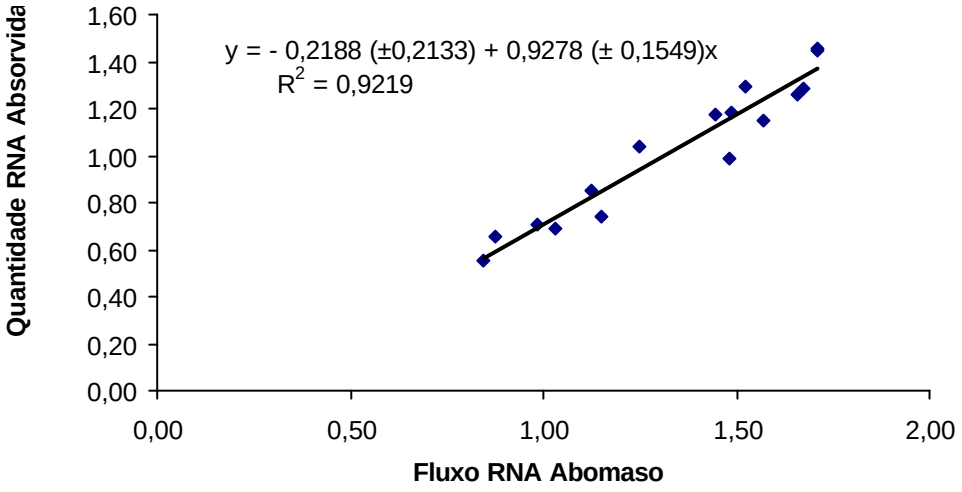

Figura 1 – Regressão entre a quantidade absorvida de RNA no intestino delgado em função do fluxo de RNA no abomaso, expressos em mmol/kg^{0,75}.

A relação média de N-RNA: N-total nas bactérias ruminais isoladas foi de 0,1369. O fluxo diário de RNA (RNA Abo) em função do nível de oferta de MS da dieta apresentou comportamento quadrático, conforme Tabela 5, estimando-se valores máximos de 1,50 mmol/kg^{0,75} para o nível de oferta de MS de 2,43 do PV. Esse comportamento é coerente com o perfil de consumo de MS observado, possivelmente podendo ser atribuído ao maior consumo ter sido obtido próximo ao tratamento de oferta de 2 % de PV em MS.

A excreção urinária diária de DP, em mmol/kg^{0,75}, aumentou linearmente ($P < 0,05$) com o nível de oferta de MS da dieta (Tabela 5). Quando foi relacionada com o consumo observado de MO digestível, (kg/dia), obteve-se a regressão apresentada na Figura 2, que indica que houve excreção ($P < 0,0001$) de 34,415 mmol

Tabela 5 – Médias diárias e erro padrão da média (s) para o fluxo de RNA no abomaso (RNA Abo), excreção urinária de derivados de purinas (DP), em mmol/$kg^{0,75}$, produção microbiana estimada pelas bases purinas (Nmic Abo) e pelos derivados de purinas (NmicDP), em gN/dia, para os níveis de oferta de MS (OMS)

Item	Níveis de oferta de MS da dieta (% peso vivo)				s	Efeitos[1]		
	1,2	1,6	2,0	2,4		L	Q	C
RNA Abo	0,874	1,148	1,473	1,484	0,1122	0,0001	0,0361	0,1759
DP	1,12	1,39	1,65	1,84	0,1036	0,0001	0,6053	0,8851
	Regressões							R^2
	$Y_{RNA\ Abo} = -1,0171 + 2,0695*OMS - 0,4253*OMS^2$							61,17
	$Y_{DP} = 0,4723 + 0,5620*OMS$							55,87

[1]L = linear; Q = quadrático; e C = cúbico.

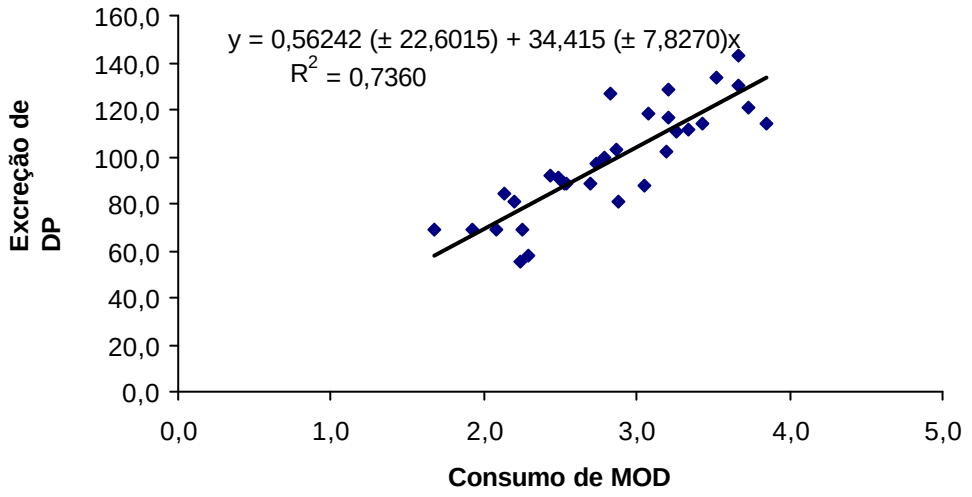

Figura 2 – Regressão entre a excreção de derivados de purinas (DP), expressa em mmol/dia, em função do consumo de MO digerida (MOD), kg/dia, em novilhas Nelore

de DP para cada kg de MO digerida. Relacionando as mesmas variáveis para *Bos indicus*, recebendo dietas nos níveis de 40 a 95 % do consumo voluntário, Soejono *et al.* (2004) descreveram a seguinte regressão: Y = - 11,38 + 31,17X (r^2 = 0,64). Em dois experimentos utilizando novilhos *Chinese Yellow Cattle (Bos namadicus)*, alimentados nos níveis de 40 a 95 % do consumo voluntário, Mo *et al.* (2004) observaram relação linear da excreção de DP em função da ingestão de MO digerida, segundo a seguinte regressão: Y = 18,86 + 21,35X (r^2 = 0,97).

Quando a excreção de derivados de purinas, expressa em mmol/dia, foi relacionada com o consumo de NDT, kg/dia, obteve-se a regressão apresentada na

Figura 3. Observa-se que houve excreção de 32,15 mmol para cada kg de NDT consumido. Essa regressão pode vir a ter aplicação prática, mas necessita de avaliação.

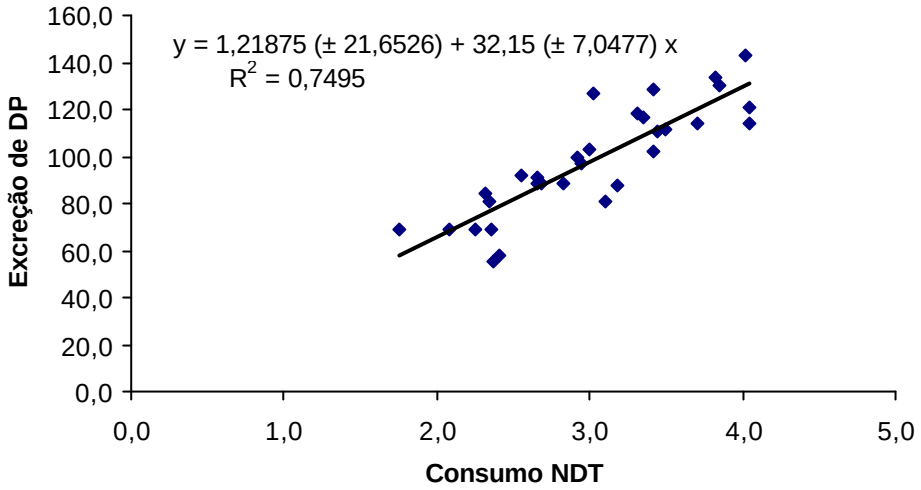

Figura 3 – Excreção de derivados de purinas, mmol/dia, em função do consumo de NDT, kg/dia, para novilhas Nelore.

Considerando o consumo de MS expresso em g/kg^{0,75} e a excreção de DP em mmol/kg^{0,75}, obteve-se a regressão ($P < 0,001$) descrita na Figura 4. Observa-se que o valor de 0,2421 ou 0,24 mmol/kg^{0,75}, representa a excreção endógena de DP. Esse valor é aproximadamente 37% menor que o descrito por Chen e Gomes (1992), baseado na recomendação de Verbic *et al*. (1990), de 0,385 mmol/kg^{0,75}, utilizando dois novilhos holandeses com alimentação intragástrica. As contribuições endógenas para a excreção de derivados de purinas em vacas holandesas secas estimadas por Orellana Boero *et al*. (2001) foram de 235 µmol/kg^{0,75}, usando a técnica de diluição de isótopo, N^{15}. Usando a mesma técnica, Gonzalez-Ronquillo *et al.* (2003) estimaram a fração endógena de 512 µmol/kg^{0,75} em vacas holandesas lactantes. Em cruzamentos de *Bos indicus* X *Bos taurus*, Ojeda *et al*. (2005) encontraram fração endógena de 277,3 µmol/kg^{0,75}, entretanto os animais foram submetidos a jejum durante cinco dias, método criticado devido ao fato de que o jejum prolongado pode alterar as atividades metabólicas do animal e, portanto, a taxa de degradação de ácidos nucléicos (CHEN; ØRSKOV, 2003).

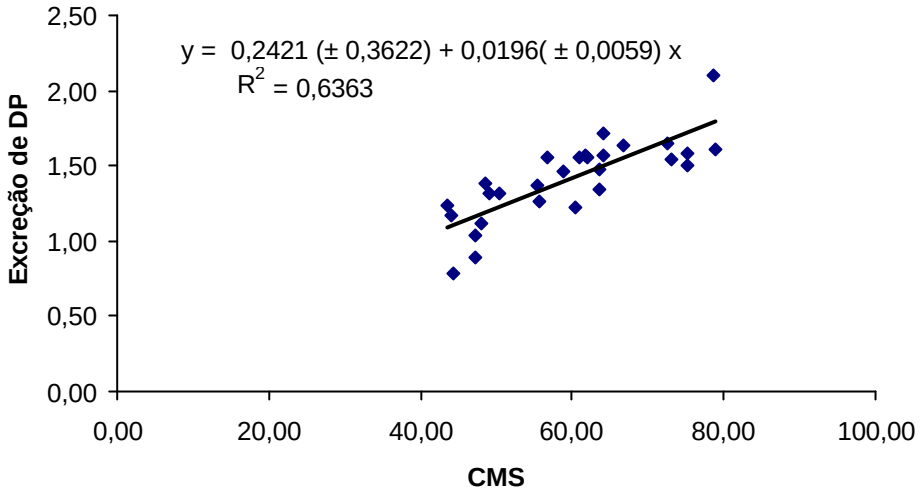

Figura 4 – Regressão entre a excreção de derivados de purinas, mmol/kg^{0,75}, em função do consumo de MS, em g/kg^{0,75}.

A excreção endógena, apesar de constituir importante parâmetro na modelagem da excreção de DP (CHEN *et al.*, 2003; GONZALEZ-RONQUILLO *et al.*, 2003), é de difícil quantificação em animais intactos (FUJIHARA *et al.*, 1987), devido às limitações para eliminar a contribuição dos microrganismos ruminais sob condições fisiológicas normais em ruminantes (CHEN *et al.*, 1990a). Verifica-se que a excreção endógena descrita na literatura varia de 146,34 a 514 µmol/kg^{0,75} o que pode ser atribuído aos diferentes métodos adotados. A utilização de equação de regressão linear parece promissora, evitando-se os efeitos adversos do jejum e da alimentação intragástrica. Entretanto os dados disponíveis ainda são restritos.

A excreção diária de derivados de purinas, mmol/kg^{0,75}, em função do fluxo de RNA no abomaso, mmol/kg^{0,75,} é apresentada na Figura 5, onde 0,86 representa a recuperação das purinas como derivados na urina e o valor de 0,4603 mmol/kg^{0,75} representa a fração endógena. Verifica-se que esta estimativa para as perdas endógenas foi maior que a obtida quando a excreção de DP foi relacionada com o consumo de MS.

A estimativa obtida a partir do fluxo de RNA parece mais adequada. Entretanto, no presente experimento não foi obtido o consumo máximo planejado, o que pode ter implicado na variação observada de fluxo de RNA, como função quadrática. Provavelmente a técnica de infusão de purinas no abomaso seja mais efetiva para criar a faixa de variação de fluxo de RNA necessária para se estimar as perdas endógenas. Entretanto, PIMPA *et al* . (2001), utilizando infusões de bases

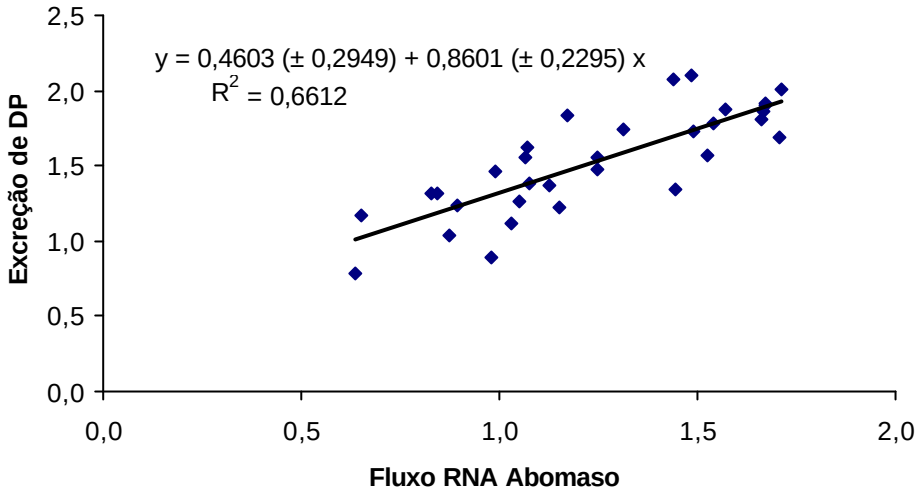

Figura 5 – Regressão entre a excreção de derivados de purinas em função do fluxo de RNA no abomaso, expressos em mmol/$kg^{0,75}$, em novilhas Nelore.

purinas, nas doses de 10 a 45 mmol/dia, no duodeno de novilhos Kedah-Kelantan com 178,3 kg de peso vivo médio, alimentados ao nível de mantença, obtiveram a relação entre a excreção urinária de DP (Y) e o fluxo duodenal de bases purinas (X), expressos em mmol/dia : Y = 7,146 + 0,847X (r^2 = 0,50), e sugeriram que 85 % do suprimento exógeno de purinas foi excretado na urina e que a excreção de 7,15 mmol por dia foi de origem endógena. Considerando o peso médio relatado por estes autores, estimou-se a excreção endógena em 146,34 µmol/ $kg^{0,75}$. Vagnoni *et al.* (1997), utilizando infusão de bases purinas no abomaso de vacas lactantes e secas, alimentadas a 90% do consumo voluntário, obtiveram a regressão entre a excreção de DP (Y) e fluxo abomasal de purinas (X): Y = 103 +0,856X. Os autores consideraram que 86 % das purinas que atingiram o omaso foram excretados como derivados de purinas urinários. Observa-se que a recuperação das purinas como derivados de purinas na urina variou relativamente pouco, de 84 a 86 %, sendo o valor recomendado por CHEN *et al.* (1992) de 85 % para o cálculo das purinas absorvidas.

A produção microbiana estimada pelos derivados de purinas na urina, expressa em g N/dia, em função do nível de oferta de MS da dieta (Tabela 5), apresentou comportamento linear ($P < 0,05$), estimando-se aumentos de 22,80 g Nmic a cada um ponto porcentual de ampliação de oferta de MS. Entretanto a estimativa baseada nas bases purinas apresentou comportamento quadrático ($P < 0,05$), com ponto de máximo de 55,20 g Nmic.

Considerando os resultados obtidos, as purinas absorvidas (PA) seriam estimadas a partir dos derivados de purinas (DP) na urina pela equação: PA = (DP – 0,4603 mmol/$kg^{0,75}$)/0,86. Também a produção de compostos nitrogenados microbianos (NMic) seria estimada a partir das purinas absorvidas, utilizando a seguinte equação: N-Mic = 70 PA/0,93*1000*0,1369, sendo 70 o teor considerado de mg de N purinas por mmol, 0,93 a digestibilidade verdadeira das purinas e 0,1369 a relação N-Mic:N-total média obtida para as bactérias isoladas do rúmen.

Não foi observada interação (P > 0,05) entre o nível de oferta de MS da dieta e o tempo de coleta sobre o pH e as concentrações de nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$) no rúmen (Tabela 6). Também não houve efeito (P > 0,05) dos níveis de oferta de MS da dieta (OMS) sobre o pH e $N\text{-}NH_3$ ruminal.

Tabela 6 – Médias de $N\text{-}NH_3$ e de pH em função dos níveis de oferta de MS da dieta e dos tempos de coleta, probabilidades dos efeitos isolados de dieta (OMS) e do tempo (T)

Item	Níveis de oferta de MS da dieta (% peso vivo)				Tempo (h)				OMS	T	Contrastes		
	1,2	1,6	2,0	2,4	0	2	4	6			L	Q	C
$N\text{-}NH_3$	10,75	12,60	10,60	10,65	9,16	18,51	10,48	6,44	0,0843	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
pH	6,84	6,88	6,81	6,80	7,14	6,70	6,71	6,78	0,6422	0,0001	0,0001	0,0001	0,0031

O efeito cúbico (P < 0,0001) do tempo de coleta sobre as concentrações de $N\text{-}NH_3$ no rúmen também foi observado por Véras *et al.* (2008), trabalhando com animais Nelore alimentados com dietas contendo 25 ou 50 % de concentrado, que descreveram concentração máxima de 14,55 mg de $N\text{-}NH_3$/100 mL em 1,83 hora após a oferta de alimento.

As máximas concentrações estimadas por Dias *et al*. (2000b) para os níveis de 37,5 e 50 % de concentrado na dieta foram de 14,82 e 17,17 mg de $N\text{-}NH_3$/100 mL, respectivamente, às 2,92 horas após o fornecimento do alimento, valores inferiores aos observados no presente trabalho. O valor obtido por Cardoso *et al*. (2000), 2,77 horas após a alimentação, foi de 17,56 mg de $N\text{-}NH_3$/100 mL. Por outro lado, Ladeira *et al*. (1999b) descreveram concentrações de $N\text{-}NH_3$ superiores de 25,46 e 28,92 mg de $N\text{-}NH_3$/100 mL às 3,19 horas após a oferta do alimento para os mesmos níveis de concentrado na dieta. Ladeira *et al*. (1999b), Dias *et al*. (2000b) e Cardoso *et al*.

(2000) utilizaram feno como volumoso e relataram efeito quadrático, provavelmente por terem usado maiores quantidades de concentrado nas dietas.

Houve efeito cúbico dos tempos de coleta sobre o pH (Tabela 6), entretanto, em geral, os valores se mantiveram dentro da faixa de 5,5 e 7,0, atingindo os limites mais baixos após a ingestão de alimento e mantendo-se assim por várias horas coerentemente ao descrito por Coelho da Silva e Leão (1979).

Conclusões e Implicações

Diferentes métodos resultaram em estimativas de 0,46 e de 0,24 mmol/$kg^{0,75,}$ para a excreção endógena de derivados de purinas em bovinos Nelore.

O valor de 0,86 foi obtido para a recuperação das purinas absorvidas como derivados na urina.

A digestibilidade verdadeira do RNA no ID é de 0,93.

Literatura Citada

BARBOSA, A. M. **Período de coleta de urina e de fezes para avaliação da excreção de creatinina, produção microbiana e digestiblidade aparente dos nutrientes em Nelore**. 2005. 50 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.

CARDOSO, R. C.; VALADARES FILHO, S. C.; COELHO DA SILA, J. F. *et al.* Síntese microbiana, pH e concentração de amônia ruminal e balanço de compostos nitrogenados, em novilhos F1 Limousin x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1844-1852, 2000.

CECAVA, M. J.; MERCHEN, N. R.; GAY, L. C. *et al*. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feding frequency and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 9, p. 2480-2488, 1990.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. **International Feed Research Unit**. Rowett Research Institute, Aberdeen, UK. 1992. 21 p. (Occasional publication).

CHEN, X. B.; MATHIESON, F. D. D. H.; REEDS, P. J. Measurements of purine derivates in urine of ruminants using automated methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 53, n. 1, p. 23-33, 1990a.

CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, preset and future. **International Feed Resources Unit**, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdon. 2003.

CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R.; HOVELL, F. D. D. Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 63, n. 1, p. 121-129, 1990b.

COELHO DA SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. **Fundamentos da nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979.

COSTA, M. A. L. **Desempenho de novilhos zebuínos e validação das equações do NRC (2001) para predizer o valor energético dos alimentos nas condições brasileiras**. 2002. 80 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

DIAS, H. L. C.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C. *et al*. Eficiência de síntese microbiana, pH e concentrações ruminais de amônia em novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p. 555-563, 2000b.

DIAS, H. L. C.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C. *et al.* Consumo e digestões totais e parciais em novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 29, n. 2, p. 545-554, 2000a.

FUJIHARA, T.; ORSKOV, E. R.; REEDS, P. J. *et al*. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, n. 1, p. 7-12. 1987.

GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A. *et al*. A comparison of purine derivatives excretion with conventional methods as indices of microbial yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 2211-2221, 2004.

GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. *et al*. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1282-1291, 2003.

HALL, M. B. Calculation of non-structural carbohydrates content of feeds that contain non-protein nitrogen. **University of Florida**, 2000. p. A-25 (Bulletin 339, April - 2000).

LADEIRA, M. M.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C. *et al.* Consumo e digestiblidades aparentes totais e parciais de dietas contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 28, n. 2, p. 395-403, 1999a.

LADEIRA, M. M.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, LEÃO, M. I. *et al.* Eficiência microbiana, concentração de amônia e pH ruminal e perdas nitrogenadas endógenas em novilhos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 2, p. 404-411, 1999b

LEÃO, M. I.; COELHO DA SILVA, J. F. Técnicas de fistulação de abomaso bezerros. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 1., Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 17., 1980, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBZ, 1980. p. 37.

LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; RENNÓ, L. N. *et al*. Consumos e digestibilidades totais e parciais de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e extrato etéreo em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1604-1615, 2004

LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; RENNÓ, L. N. *et al*. Consumos e digestibilidades totais e parciais de carboidratos totais, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 34, n. 2, p. 670-678, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7. ed. Washington, DC: National Academic Press, 1996. 242 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, DC: National Academic Press, 2001. 381 p.

OJEDA, A.; PARRA, O.; BALCELLS, J. *et al.* Urinary excretion of purine in *Bos indicus* x *Bos Taurus* crossbred cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 93, p. 821-828, 2005.

ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S. M. *et al*. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 243-250, 2001.

PEREZ, J. F.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. *et al*. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ^{15}N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p. 699-709, 1996.

PIMPA, O.; LIANG, J. B.; JELAN, Z. A. *et al*. Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah-Kelantan cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 92, p. 203-214, 2001.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos** – métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J. *et al*. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II – Carbohydrates and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SOEJONO, M.; YUSIATI, L. M.; BUDHI, B. P. *et al.* Purine derivative excretion and recovery of ^{14}C-uric acid in urine of Ongole cattle given different levels of feed intake. In: MAKKAR, H. P. S.; CHEN, X. B. **Estimation of microbial protein Suplly in ruminants using purine derivatives**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004. p. 56-62.

TIBO, C. T.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. *et al*. Níveis de concentrado em dietas de novilhos mestiços F1 Simental x Nelore.1. Consumo e digestibilidades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3 p. 910-920, 2000.

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. *et al.* Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1695-1702, 1997.

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

VÉRAS, R. M. L. **Consumo, digestibilidades total e parcial, produção microbiana e exigências de proteína para mantença de bovinos Nelore**. 2006. 98 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

VÉRAS, R. M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; AZEVEDO, J. A. G. *et al.* Níveis de concentrado na dieta de bovinos Nelore de três condições sexuais: consumo, digestibilidades total e parcial, produção microbiana e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 37, n. 5, p. 951-960, 2008.

VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A. *et al*. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v. 114, n. 3, p. 243-248, 1990.

VIEIRA, F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 1980. 98 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1980.

ZINN, R. A.; OWENS, F. N. A rapid procedure for purine measurement anda its use for estimating net ruminal protein synthesis. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 66, p. 157-166, 1985.

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, n. 2, 1983.

Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas em bovinos Nelore alimentados em nível de mantença e recebendo infusão abomasal de RNA

Resumo: Objetivou-se quantificar a contribuição endógena para a excreção urinária de derivados de purinas (DP) e estabelecer a proporção de purinas no abomaso recuperadas na urina de bovinos Nelore por meio de regressão em função dos níveis de infusão de RNA no abomaso. Foram utilizadas oito novilhas da raça Nelore, com peso médio de 296 ± 15 kg, fistuladas no rúmen e abomaso, alojadas em baias individuais, distribuídas em dois quadrados latinos 4 x 4, balanceados, para efeito residual com quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos experimentais. Os tratamentos foram constituídos de infusões de RNA no abomaso nas dosagens de 0, 33, 66 e 100 mmol/dia. Todos os animais receberam a dieta próximo ao nível de mantença durante sete dias com finalidade de adaptação, antes do início das infusões. Após sete dias de adaptação, os quatro períodos experimentais de 15 dias cada um, se sucederam com o seguinte esquema: 1º ao 4º dia – intervalo entre as infusões; 5º ao 9º dia – coleta de amostras de digesta de abomaso; do 5º ao 8º dia – coleta total de urina e fezes; do 10º ao 14º dia – infusão de RNA no abomaso; do 11º ao 14º dia – coleta total de urina. Dessa forma, antes de fazer a infusão em cada animal, foram obtidos fluxos de proteína microbiana no abomaso usando bases purinas e a excreção urinária dos derivados de purina. Assim, o fluxo de bases purinas no abomaso foi obtido somando-se o valor de cada animal antes da infusão com a respectiva quantidade infundida. Os fluxos de N total no abomaso, N-RNA e RNA antes das infusões foram em média 51,15, 5,11 e 35,23 g/dia, respectivamente. A excreção diária de derivados de purinas (Y) mmol/kg^{0,75}, em função do fluxo de RNA no abomaso (X), mmol/kg^{0,75,} se ajustou à regressão ($P < 0,0001$): $Y = 0,30127 + 0,74143\ X$, indicando que 0,30 mmol/kg^{0,75} corresponde às perdas endógenas e 0,74 é a recuperação das purinas absorvidas no abomaso como derivados de purinas na urina.

Palavras-chave: contribuição endógena; derivados de purina; purinas absorvidas.

Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives in Nelore cattle fed according maintenance level and receiving RNA infusion into abomasum

Abstract: The objective of this work were: to quantify the endogenous contribution to the urinary excretion of purine derivatives (DP) and; to establish the proportion of purines into abomasum recovered in urine in Nelore cattle by means of regression as a function of the levels of RNA infusion into abomasum. It was used eight heifers of Nelore breed, with average weight 296 ± 15 kg, fistulated at the rumen and abomasum, accomodated in individual stalls. Experimental design was 2 balanced latin squares 4 x 4, with four animals, four treatments, and four experimental periods. Treatments constituted of RNA infusions into abomasum at the dosages: 0, 33; 66 and 100 mmol/day. Every animal were fed diets balanced closely to their maintenance level during seven days aiming the adaptation, before the beginning of infusions. Following the seven days adaptation to the diet, four experimental periods of fifteen days each ensued according the scheme: from 1st to 4th day- interval between infusions; from 5st to 9th day – samples of digesta from abomasum were collected; from 5st to 8th day – total collection of urine and feces; from 10th to 14th day – RNA infusion into abomasum; from 11th to 14th day– total collection of urine. Therefore, before executing the infusion in each animal, microbial protein flux into abomasum were obtained using purine bases and urinary excretion of purine derivatives. Hence, the flux of purine bases into abomasum was obtained summing up the value of each animal before the infusion and the respective infused quantity. Fluxes of N total into abomasum, N-RNA and RNA before infusions were, in average, 51,15 g/day; 5,11 and 35,23 g/day, respectively. Daily excretion of purine derivatives (Y) mmol/$kg^{0,75}$, as a function of RNA flux into abomasum (X), mmol/$kg^{0,75}$, was adjusted to the regression ($P < 0.0001$): $Y = 0.30127 + 0.74143\ X$, indicating that 0,30 mmol/$kg^{0.75}$ correspond to endogenous losses and 0,74 is the recovery of absorbed purines into abomasum as purine derivatives in urine.

Key words: endogenous contribution; purine derivatives; absorbed purines.

Introdução

As exigências protéicas dos ruminantes são atendidas pela disponibilidade dos aminoácidos para absorção no intestino delgado. O aporte de proteína metabolizável para o animal é quantificado pela contribuição da proteína microbiana e da fração da proteína dietética que resiste à degradação ruminal (PÉREZ *et al.*, 1996). Embora ácidos nucléicos dietéticos possam escapar à degradação ruminal, o fluxo duodenal de ácidos nucléicos é predominantemente de origem microbiana.

Portanto, o conhecimento da contribuição microbiana para a alimentação do animal hospedeiro é primordial para o desenvolvimento de dietas e melhoria da produção. Embora a produção de proteína microbiana ruminal seja reconhecida há muitos anos, tem sido extremamente difícil determiná-la e quantificar sua contribuição para nutrição de ruminantes.

Os métodos geralmente utilizados para determinar a produção de proteína microbiana dependem da utilização de indicadores microbianos, tais como RNA (ácido ribonucléico), DAPA (ácido 2,6 diaminopimélico) e ^{15}N ou de radioisótopos ^{35}S, e ^{32}P. No entanto, a necessidade de utilização de animais fistulados e procedimentos complexos para estimar o fluxo de digesta são as principais limitações.

A necessidade de desenvolvimento de técnicas não invasivas na experimentação animal favoreceu a utilização da excreção de derivados de purinas (DP) na urina para a quantificação da produção de proteína microbiana, como alternativa à utilização de animais fistulados; entretanto, permanecem desafios a serem elucidados.

Pimpa *et al*. (2001) trabalhando com a recuperação dos derivados de purina na urina após infusão duodenal de bases purinas em animais *Bos indicus* alimentados em nível de mantença, encontraram relação linear entre a excreção de derivados de purina na urina e o fluxo de bases purinas no duodeno, sugerindo que 0,85 da suplementação exógena de bases purinas foi excretada na urina, com excreção endógena de 7,15 mmol/dia. Ainda os mesmos autores, afirmaram que a excreção de derivados de purina em zebuínos foi similar aos animais europeus. Valores diferentes foram encontrados por Beckers e Thewis (1994) $Y = 0,531 + 0,725X$ ($r^2 = 0,988$; $P < 0,001$), expressos em mmol/$kg^{0,75}$, infundindo diferentes doses de *Torula yeast* no duodeno de dois bovinos *Belgian Blue*.

Assim, objetivou-se quantificar a contribuição endógena para a excreção urinária de derivados de purinas e estabelecer a proporção de purinas no abomaso

recuperadas na urina em novilhas Nelore alimentadas em nível de mantença e recebendo infusão abomasal de RNA.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Foram utilizadas oito novilhas da raça Nelore, com peso inicial de aproximadamente 296 ± 15 kg, fistuladas no rúmen e abomaso e mantidas em confinamento no Laboratório de Animais (DZO/UFV). Os animais foram alojados em baias individuais, cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, com área de 9 m^2 e dotadas de comedouros de alvenaria e bebedouros individuais.

As dietas à base de silagem de milho e concentrado nas proporções 60 e 40% na base da matéria seca, respectivamente, foram fornecidas aproximadamente ao nível de mantença (1,2 % do PV). As rações foram balanceadas de acordo com o NRC (1996), contendo aproximadamente 12 % PB na MS e fornecidas duas vezes ao dia, às 8 e às 16 horas. A proporção dos ingredientes no concentrado, na base da matéria natural e a composição do concentrado, da silagem e da dieta se encontram na Tabela 1.

O experimento foi conduzido segundo o delineamento em quadrado latino (QL), sendo os animais distribuídos em dois quadrados latinos 4 x 4, balanceados para efeito residual com quatro animais, quatro períodos e quatro tratamentos por QL. Os tratamentos experimentais foram constituídos de infusões no abomaso de RNA (*Torula yeast*, type VI, Sigma®) nas dosagens de 0, 33, 66 e 100 mmol/dia. Todos os animais receberam a dieta em 1,2 % do PV de matéria seca durante sete dias com finalidade de adaptação, antes do início das infusões.

Após sete dias de adaptação, os quatro períodos experimentais de 15 dias cada um, se sucederam com o seguinte esquema: 1º ao 4º dia- intervalo entre as infusões; 5º ao 9º dia – coleta de amostras de digesta de abomaso; do 5º ao 8º dia – coleta total de urina e fezes; do 10º ao 14º dia – infusão de RNA no abomaso; do 11º ao 14º dia- coleta total de urina. Dessa forma, antes de fazer a infusão em cada animal, foram obtidos fluxos de proteína microbiana no abomaso usando bases purinas e a excreção urinária dos derivados de purina. Assim, o fluxo de bases purinas no abomaso foi obtido somando-se o valor de cada animal antes da infusão com a respectiva quantidade

Tabela 1 – Composição do concentrado, da silagem de milho e da dieta

	Silagem	Concentrado[1]	Dieta
MS	27,29	88,00	51,57
MO[2]	92,79	98,53	95,09
PB[2]	6,80	19,47	11,87
EE[2]	2,25	3,67	2,82
FDNcp[2]	57,40	13,40	39,80
CNF[2]	26,35	64,37	41,56

[1] Proporção dos ingredientes no concentrado (% MN): fubá de milho, 75,54; farelo de soja, 21,04; uréia/SA, 1,21; M. mineral, 2,21%.

[2] Percentagem na matéria seca da dieta.

infundida. A FDNi foi utilizada como indicador interno para determinação dos fluxos de digesta no abomaso. O fluxo de MS abomasal foi obtido pela relação entre o consumo de FDNi e a concentração da mesma nas amostras de digesta de abomaso.

Diariamente, do 1º ao 9º dia, foram quantificados e amostrados a silagem e o concentrado fornecidos. Ao final de cada período, foram efetuadas amostras compostas do alimento, que foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a -20°C para análises posteriores de MS.

As coletas de amostras de digesta de abomaso foram feitas a intervalos de 22 horas, iniciando-se às 18 horas do 4º dia até as 8 horas do 9º dia. As amostras foram acondicionadas em potes plásticos e pré-secas em estufa ventilada a 65° C, por 72 a 96 horas, e moídas em moinho de facas (Willey, Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA) com peneira de 1 mm. Uma amostra composta para cada animal em cada período foi elaborada, com base no peso seco de cada amostra. As amostras compostas foram submetidas às análises laboratoriais para determinação de MS, nitrogênio total (N), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e bases purinas.

Para a coleta total de urina foram utilizados cateteres de Folley nº 22, duas vias, com balão de 30 mL. Na extremidade livre do cateter foi adaptada mangueira de polietileno, pela qual a urina foi conduzida até recipientes de plástico com tampa, contendo 200 mL de H_2SO_4 a 20 % para manter o pH final da urina abaixo de 3. Ao término de cada período de 24 h de coleta, a urina foi pesada e homogeneizada. Foram obtidas amostras de 10 mL que foram diluídas com 40 mL de H_2SO_4 0,036N, que foram armazenadas a -20° C para posteriormente serem analisadas quanto aos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico).

As coletas totais de fezes de cada animal foram realizadas utilizando-se baldes individuais de 20 litros, onde as fezes foram colocadas após cada defecação espontânea. Ao término de cada período de 24 horas de coleta, as fezes foram pesadas, homogeneizadas e retirada amostra representativa que foi secada em estufa ventilada a 60° C, e moída em moinho com peneira de 1 mm, quando foi elaborada uma amostra composta proporcional a excreção diária para cada animal em cada período, para análises posteriores.

Soluções de RNA, como fonte de base purinas (BP), foram infundidas no abomaso nas quantidades de 0, 33, 66 e 100 mmol/dia, para cada um dos oito animais em cada período experimental. Essas quantidades foram divididas em seis doses iguais fornecidas a intervalos de quatro horas, iniciando-se às 8 horas do 5º dia experimental. Para as infusões, as tampas das cânulas abomasais foram substituídas por outras adaptadas com tubos de polietileno, de aproximadamente 15 cm de comprimento, acondicionados no interior do abomaso. Na extremidade externa, o tubo de polietileno continha uma válvula na qual foi conectada a uma seringa, controlada manualmente. Para garantir que a quantidade prevista de RNA atingisse o abomaso, foi utilizada solução fisiológica para remover resíduos da solução de RNA no tubo de polietileno. As soluções de RNA (2,07 mmol de bases purinas/g) foram preparadas no dia anterior à infusão, pela diluição em água alcalinizada com NaOH (pH = 11) a 40° C (ORELLANA BOERO *et al.*, 2001). Após a diluição, o pH foi ajustado para 8 com HCl concentrado (PIMPA *et al.*, 2001).

Para avaliação do pH e da concentração de N-NH_3 ruminal, foram realizadas, no 9º dia do 4º período experimental, coletas de líquido ruminal imediatamente antes do fornecimento da dieta e 2, 4 e 6 horas após o fornecimento da mesma. As amostras foram tomadas na região de interface líquido/sólido do ambiente ruminal e filtradas em uma camada tripla de gaze. O pH foi medido imediatamente após as coletas através de potenciômetro. Uma alíquota de 50 mL foi adicionada de 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) e acondicionada em frasco de plástico, identificada e congelada a -15ºC para posterior quantificação da concentração de N-NH_3. Os teores de N amoniacal no líquido ruminal foram avaliados pelo sistema micro-Kjeldahl, sem digestão ácida da amostra, utilizando-se como base para destilação o hidróxido de potássio (2N), após centrifugação da amostra a 1.000 x g, por 15 minutos.

Antes do fornecimento da dieta e 2, 4 e 6 horas após no 9º dia do quarto período experimental, foram efetuadas as coletas de digesta ruminal para o isolamento

de bactérias. Para determinação da composição de bactérias, aproximadamente dois litros de digesta de rúmen de cada animal foram coletados via fístula ruminal e as bactérias isoladas conforme Cecava *et al*. (1990). Para medir a produção de biomassa microbiana que chega ao abomaso foram utilizadas as bases purinas, determinadas conforme descrito por Ushida *et al*. (1985). A quantidade de compostos nitrogenados microbianos que chega ao abomaso foi calculada através do fluxo de N-RNA presente no abomaso dividido pela relação N-RNA: N-total nas bactérias isoladas do rúmen, e o fluxo de MS bacteriana no abomaso foi determinado pela relação entre o N microbiano no abomaso e a porcentagem de N na MS microbiana.

As perdas endógenas e a recuperação de bases purinas como derivados de purinas foram estimadas por regressão entre a excreção diária dos derivados de purinas na urina (Y) e as bases purinas no abomaso (X), expressas em mmol/$kg^{0,75}$, representadas, respectivamente, pelo intercepto e pelo coeficiente de inclinação da equação de regressão linear simples.

Os teores de MS e de N foram determinados nas amostras, conforme técnica descrita por Silva e Queiroz (2002). As análises de alantoína na urina foram feitas por método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara *et al*. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992). Para a quantificação de ácido úrico na urina foi utilizado o sistema enzimático por reação de ponto final seguindo o princípio uricase – reação de Trinder, utilizando-se kits comerciais da marca Labtest Diagnóstica S.A. (ref.:73).

Os resultados foram avaliados por intermédio do procedimento PROC MIXED SAS (SAS, 1999), adotando-se 0,05 % como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I, sendo as comparações entre médias realizadas através de contrastes ortogonais e as respectivas equações de regressão geradas pelo PROC REG SAS (SAS, 1999).

Resultados e Discussão

A partir da Tabela 2, verifica-se que os consumos médios de MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e de NDT foram constantes nos quatro níveis de infusão de RNA no abomaso, com média de 4,07, 3,88, 0,47, 0,11, 1,61, 1,68 e 3,15 kg por dia, respectivamente. O nível de consumo de MS observado, de 1,37 % do peso vivo foi próximo à mantença, o que está de acordo com o planejamento experimental, como técnica para a estimativa da fração endógena de derivados de purinas (DP) na urina. Orellana Boero *et al.* (2001)

Tabela 2 – Médias e erro padrão da média (s) estimadas para os consumos de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) e digestibilidades aparente total e ruminal de MS, MO, PB, EE, FDN e CNF e teores de NDT na dieta para os níveis de infusão de RNA no abomaso

Item	Níveis de infusão de RNA no abomaso (mmol/dia)				s
	0	33	66	100	
Consumo (kg/dia)					
MS	4,08	4,07	4,07	4,08	0,1018
MO	3,88	3,87	3,88	3,88	0,0884
PB	0,47	0,47	0,47	0,47	0,0085
EE	0,11	0,11	0,11	0,11	0,0024
FDN	1,61	1,61	1,61	1,61	0,0555
CNF	1,69	1,68	1,69	1,68	0,0310
NDT	3,15	3,13	3,12	3,12	0,0905
Digestibilidade Aparente Total (%)[1]					
MS	75,39	74,81	74,67	74,76	0,9077
MO	78,22	77,93	77,68	77,56	0,8627
PB	64,52	66,56	65,96	64,03	1,5564
EE	76,37	78,59	77,89	76,65	1,9824
FDN	63,34	62,37	63,37	61,62	2,1504
CNF	96,29	95,82	94,49	96,60	0,7123
NDT	77,09	76,89	76,64	76,39	0,7423
Digestibilidade Ruminal (%)					
MS	66,44	67,17	62,43	64,97	2,9713
MO	67,17	65,71	66,35	65,82	2,8218
PB[2]	31,82	32,58	29,08	33,54	2,8932
EE[2]	-5,11	-2,21	-1,82	5,52	7,0151
FDN	86,64	84,68	84,27	88,40	2,4588
CNF	61,79	60,80	63,49	57,44	4,6925

[1] % do total digestível; [2] % do ingerido.

sugeriram que a alimentação dos animais ao nível de mantença seria um procedimento que melhor se aproximaria das condições normais de alimentação.

A digestibilidade aparente total da MS, MO, PB, EE, FDN, CNF e teores de NDT, foram em média 74,91, 77,85, 65,27, 77,37, 62,67, 95,80 e 76,75 %, respectivamente, e apresentaram o mesmo comportamento observado para o consumo. A digestibilidade no rúmen é resultado da competição entre digestão e taxa de passagem, sendo negativamente relacionada com a ingestão de matéria seca (VAN SOEST, 1994). Coeficientes de digestibilidade da MS, MO e FDN de 65,2, 71,13 e 54,1 %, respectivamente, foram observados por Chizzotti (2007) trabalhando com fêmeas F1 Nelore X Red Angus com consumo médio de 2,6 kg MS/dia. Entretanto, os

valores médios de 71,3, 88,06 e 90,57 % relatados pelo mesmo autor para os coeficientes de digestibilidade da PB, EE e CNF foram superiores.

Para a digestibilidade aparente ruminal, observaram-se médias de 65,24, 66,26, 31,75, -0,90, 86,00 e 60,88 % para MS, MO, PB, EE, FDN, CNF, respectivamente. Véras *et al*. (2007), Véras *et al*. (2008) e Tibo *et al*. (2000) relataram médias para a digestibilidade aparente ruminal da MS e MO de 61,54 e 70,86 %, 56,38 e 65,81 %, 69,73 e 68,41 % respectivamente. Os valores da literatura estão relativamente próximos, levando em consideração o consumo de MS e o volumoso de cada trabalho. Véras *et al*. (2007; 2008) encontraram os referidos resultados trabalhando com fêmeas Nelore alimentados com silagem de milho (25 ou 50 % de concentrado), com consumos médios de MS de ordem de 1,82 e 1,75 % do PV, respectivamente. Por outro lado, trabalhando com animais mestiços F1 Simental X Nelore, Tibo *et al*. (2000) reportaram valores médios de consumo de 1,55 % do PV para dietas a base de feno (75 %) e concentrado (25 %).

O fluxo de N total no abomaso, N-RNA e RNA antes das infusões foi em média 51,15 g/dia; 5,11 e 35,23 g/dia, respectivamente. Comportamento linear ($P < 0,001$) foi observado para excreção diária de derivados de purinas, em função do fluxo de RNA no abomaso expresso em mmol/kg^{0,75}: $Y = 0,74143X + 0,30127$ (Figura 2) indicando que 74 % das bases totais foram recuperadas na urina e que 0,30 mmol/kg^{0,75} corresponde à contribuição endógena. Os DP urinários são provenientes de purinas absorvidas e da contribuição endógena de DP do tecido corporal.

Valores em mmol/kg^{0,75}, de 0,259 a 0,530 para vacas lactantes foram citados por Gonzalez-Ronquilo *et al*. (2003), que encontraram média de 0,512 para vacas em diferentes estágios de lactação. Orellana Boero *et al*. (2001) estimaram menores excreções endógenas em vacas secas (0,236 mmol/kg^{0,75}) em relação aos citados para vacas em lactação. Em novilhos ou novilhas, Verbic *et al*. (1990), Fujihara *et al*. (1987) e Gisecke *et al*. (1994) encontraram médias de 0,365, 0,455 e 0,489 mmol/kg^{0,75}, respectivamente. Beckers e Théwis (1994) relataram média de 0,531 mmol/kg^{0,75} em touros Belgian Blue. As diferenças entre as observações encontradas na literatura são atribuídas à utilização de diferentes técnicas e a possíveis variações no metabolismo dos ácidos nucléicos em animais em diferentes estádios fisiológicos tais como crescimento, lactação, gestação. Com relação ao grupo genético, têm sido registradas diferenças na excreção urinária de DP entre *Bos taurus* e *Bos indicus* e, segundo Chen e Ørskov (2003), para animais zebuínos devem ser considerados valores de DP

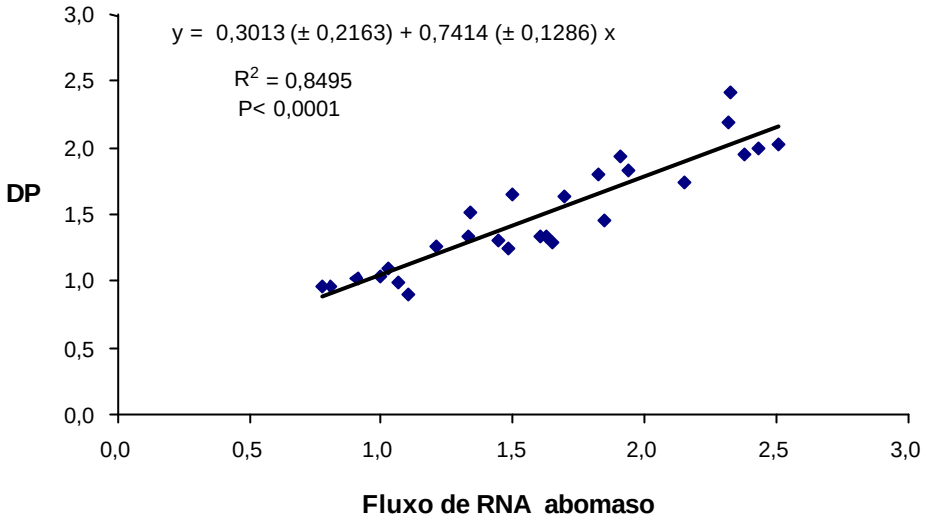

Figura 1 – Excreção de derivados de purina (DP) na urina em função do fluxo diário de RNA no abomaso, expressos em mmol/kg^{0,75}.

endógeno inferiores (0,147 mmol/kg^{0,75}) aos 0,385 mmol/kg^{0,75} sugeridos por estes autores para animais taurinos.

Pimpa *et al.* (2001), infundindo quatro níveis de bases purinas no duodeno (10, 15, 30 e 45 mmol/dia) em bovinos Kedah-Kelantan (*Bos indicus*) alimentados ao nível de mantença obtiveram relação: Y = 0,847X + 7,146, onde 0,85 é a recuperação urinária das bases infundidas e 7,15 ou 0,147 mmol/kg^{0,75} é a excreção endógena. Por outro lado, Osuji *et al.* (1996) relataram a excreção endógena de DP de 0,17 mmol/kg^{0,75} em *Bos indicus* mantidos em jejum.

Foram descritas recuperações de DP na urina através de infusão de purinas pós-rúmen de 0,72 (BECKERS; THÉWIS *et al.*, 1994) e 0,86 (VAGNONI *et al.*, 1997). Verbic *et al.* (1990) relataram recuperação de 0,77 de purinas infundidas, e propuseram um ajuste para a digestibilidade verdadeira dos ácidos nucléicos de 0,913 ± 0,026 para calcular a recuperação das bases purinas absorvidas. Com esta correção a recuperação foi de 0,85.

Nos experimentos relatados os valores foram determinados apenas com dois (VERBIC *et al.*, 1990) ou cinco animais (ORELLANA BOERO *et al.*, 2001). Nos dois trabalhos, não houve efeito significativo do animal na recuperação urinária de DP (VERBIC *et al.*, 1990; VAGNONI *et al.*, 1997), enquanto que em outros dois experimentos a média de recuperação foi de 0,58 e 0,78 com dois animais (ORELLANA BOERO *et al.*, 2001) e variaram de 0,72 a 0,90 com três animais

(RONQUILLO-GONZÁLEZ *et al.*, 2003). Além disso, Orellana Boero *et al.* (2001) relataram que a recuperação parecia estar aumentando com o aumento dos níveis de infusão duodenal de bases purinas. A razão para esta variação da recuperação dos DP na urina entre os experimentos, usando infusão de bases purinas ou infusão intravenosa de ^{14}C-alantoína, não é conhecida, mas as fontes de variação precisam ser identificadas para melhorar a precisão da previsão do fluxo duodenal de purinas (PRASITKUSOL *et al.*, 2002).

Considerando os dados desse experimento, as purinas absorvidas (PA) seriam calculadas como: PA = (DP - 0,30 $PV^{0,75}$)/0,74. Comparando essa equação com a obtida no experimento 1, em que PA = (DP -0,46$PV^{0,75}$)/0,86, se fosse considerado um animal de 300 kg com uma excreção diária de DP de 120 mmol, a PA seria estimada em 132, 8 mmol no caso da equação do experimento 2 e de 100,9 mmol se fosse utilizada a equação do experimento 1; ou seja, as purinas absorvidas seriam aproximadamente 31,5% maiores se fosse utilizada a equação do experimento 2. Dessa forma, sugere-se utilizar o valor obtido nesse experimento para calcular as perdas endógenas de DP, considerando que a técnica da infusão parece ser mais adequada.

Os valores médios de pH e N-NH_3 observados nos tempos 0, 2, 4 e 6 horas após o fornecimento da dieta estão expressos Figura 2. As médias de pH variaram de 6,85 à 6,14 mantendo-se dentro dos limites fisiológicos durante todo o estágio experimental.

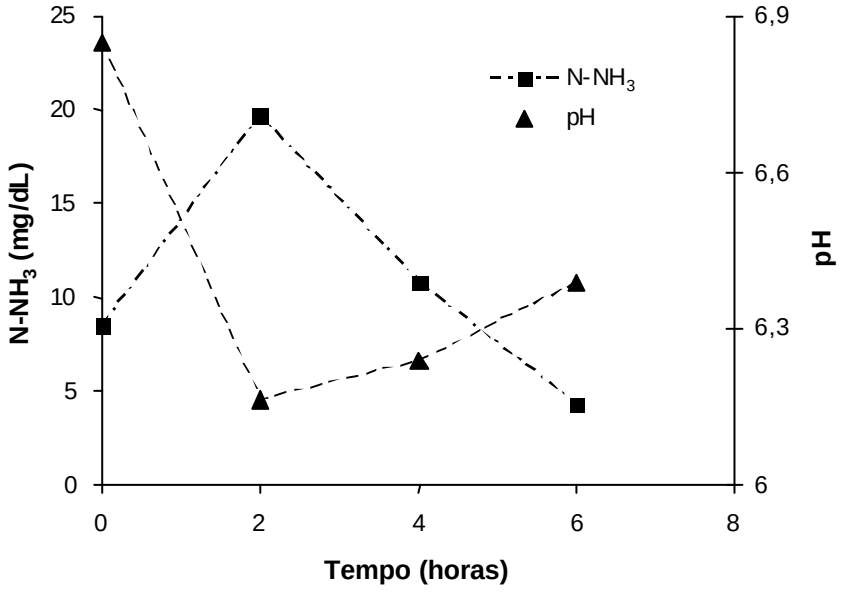

Figura 2 – Médias das concentrações de amônia ruminal (mg/dL) e do pH do líquido ruminal em função dos tempos de coleta (horas).

Houve uma grande variação nas médias de N-NH_3 ruminal nos tempos de coleta, observando-se médias elevadas de 19,68 mg/dL, duas horas após a alimentação e médias inferiores de 4,29 mg/dL seis horas após (Figura 1). Trabalhos indicam que a otimização do crescimento microbiano e da digestão da MO no rúmen ocorrem com concentrações de N amoniacal da ordem de 3,3 a 8,0 mg/dL, respectivamente. Entretanto, são relatadas amplas variações nestas concentrações, associadas às máximas taxas de crescimento microbiano, devido a circunstâncias não claramente definidas, responsáveis por mudanças no ambiente ruminal e ou na microbiota envolvida na produção e utilização desses compostos amoniacais (HOOVER, 1986). O nível ideal de amônia no rúmen depende da disponibilidade ruminal de energia (NRC, 1996). A concentração de amônia ruminal permite avaliar o balanceamento de proteína da dieta, de modo que altas concentrações de amônia estejam associadas ao excesso de proteína degradada no rúmen e/ou à baixa concentração de carboidratos fermentáveis (RIBEIRO *et al.*, 2001). Muitos autores defendem a existência de concentrações mínimas de N-NH_3 para que não sejam limitadas a fermentação e degradação da fibra, porém não há consenso sobre um valor comum. Satter e Slyter (1974) e Mehrez *et al.* (1977) citados por Franco *et al.* (2004), recomendaram de 2 a 5 mg de N-NH_3/100 mL e de 19 a 13 de N-NH_3/100 mL de líquido ruminal, respectivamente.

Conclusões e Implicações

Recomenda-se utilizar o valor de 0,30 mmol/kg$PV^{0,75}$ para a excreção endógena de derivados de purinas em bovinos Nelore e o valor de 0,74 para a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas.

Literatura Citada

BECKERS, Y.; THEWIS, A. Excretion of purine derivatives in urine of Belgian Blue bulls following duodenal infusion of purines from *Torula yeast*. **Proceedings of the Society of Nutrition Physiology**, v. 3, p. 235, 1994.

CECAVA, M. J.; MERCHEN, N. R.; GAY, L. C. *et al.* Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feding frequency and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 9, p. 2480-2488, 1990.

CHEN, X. B.; HOVELL, F. D. D.; ØRSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants — recycling of allantoin into the rumen via saliva and its fate in the gut. **British Journal of Nutrition**, v. 63, p. 197-205, 1990a.

CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R.; HOVELL, F. D. D. Excretion of purine derivatives by ruminants — endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**., v. 63, p. 121-129, 1990b.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. **International Feed Research Unit**. Rowett Research Institute, Aberdeen, UK, 1992. 21 p. (Occasional publication)

CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. In: ___; ___ (Ed.) **Estimation of microbial protein supply in ruminats using urinary purine derivatives**, 2004. p. 180-210.

CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, preset and future. **International Feed Resources Unit**, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdon, 2003.

CHIZZOTTI, M. L. **Exigências nutricionais de bovinos Nelores puros e cruzados de diferentes classes sexuais**. 2007. 118 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

FUJIHARA, T.; ORSKOV, E. R.; REEDS, P. J. *et al*. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, n. 1, p. 7-12. 1987.

GIESECKE, D.; BALSLIEMKE, J.; SÜDEKUM, K. H. *et al*. Plasma level, clearance and renal excretion of endogenous and ruminal purines in the bovine. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 70, p. 180-189, 1993.

GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A. *et al*. A comparison of purine derivatives excretion with conventional methods as indices of microbial yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 2211-2221, 2004.

GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. *et al*. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1282-1291, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C: National Academic Press, 1996. 242 p.

ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S. M. *et al*. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 243-250, 2001.

OSUJI, P. O.; NSAHLAI, I. V.; KHALILI, H. Effect of fasting on the urinay excretion of nitrogen and purine derivatives by zebu (*Bos Indicus*) and crossbred (*Bos indicus* x *Bos taurus*) cattle. **Journal of Applied Animal Research**, v. 10, p. 39-47, 1996.

PEREZ, J. F.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. *et al*. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ^{15}N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal of Nutrition**, v. 75, p. 699-709, 1996.

PIMPA, O.; LIANG, J. B.; JELAN, Z. A. *et al*. Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah-Kelantan cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 92, p. 203-214, 2001.

PRASITKUSOL, P.; ORSKOV, E. R.; CHEN, X. B. *et al*. Variation between sheep in renal excretion of [14C]allantoin. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 561-568, 2002.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos –** métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2002.

TIBO, C. T.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. *et al*. Níveis de concentrado em dietas de novilhos mestiços F1 Simental x Nelore.1. Consumo e digestibilidades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 910-920, 2000.

USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J. P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction and Nutrition Development**, v. 25, p. 1037-1046, 1985.

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. *et al.* Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1695-1702, 1997.

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

VÉRAS, R. M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; AZEVEDO, J. A. G. *et al.* Níveis de concentrado na dieta de bovinos Nelore de três condições sexuais: consumo, digestibilidades total e parcial, produção microbiana e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 37, n. 5, p. 951-960, 2008.

VÉRAS, R. M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; AZEVEDO, J. A. G. *et al.* Níveis de proteína na dieta de bovinos Nelore de três condições sexuais: consumo, digestibilidades total e parcial, produção microbiana e parâmetros ruminais**. Revista Brasileira Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 1199-1211, 2007

VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A. *et al*. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v. 114, n. 3, p. 243-248, 1990.

66,25

3 CONCLUSÕES GERAIS

Diferentes métodos resultaram em estimativas de 0,46 e de 0,24 mmol/$kg^{0,75,}$ para a excreção endógena de derivados de purinas em bovinos Nelore.

O valor de 0,86 foi obtido para a recuperação das purinas absorvidas como derivados na urina.

A digestibilidade verdadeira do RNA no ID, de 0,93, é maior do que o valor assumido na literatura para o cálculo de produção microbiana.

Recomenda-se utilizar o valor de 0,30 mmol/$kgPV^{0,75}$ para a excreção endógena de derivados de purinas em bovinos Nelore e o valor de 0,74 para a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo