FONTES ENERGÉTICAS E MÉTODOS DE COLETA DE URINA EM ENSAIOS DE NUTRIÇÃO COM CORDEIROS

TAIALA CRISTINA DE JESUS PEREIRA

2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DE BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FONTES ENERGÉTICAS E MÉTODOS DE COLETA DE URINA EM ENSAIOS DE NUTRIÇÃO COM CORDEIROS

Autora: Taiala Cristina de Jesus Pereira
Orientadora: Profª D.Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL
Outubro 2015

TAIALA CRISTINA DE JESUS PEREIRA

FONTES ENERGÉTICAS E MÉTODOS DE COLETA DE URINA EM ENSAIOS DE NUTRIÇÃO COM CORDEIROS

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientadora: Prof[a.] D.Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Co-orientadores: Prof . D.Sc. Herymá Giovane de Oliveira Silva
Prof. D.Sc. Gleidson Giordano Pinto de Carvalho

ITAPETINGA
BAHIA-BRASIL
Outubro de 2015

636.085 Pereira, Taiala Cristina de Jesus.

P496f Fontes energéticas e métodos de coleta de urina em ensaios de nutrição com cordeiros. / Taiala Cristina de Jesus Pereira. – Itapetinga-BA: UESB, 2015.

114f.

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Profª. D.Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira e co-orientação do Prof. D.Sc. Herymá Giovane de Oliveira Silva e Prof. D.Sc. Gleidson Giordano Pinto de Carvalho.

1. Cordeiros – Nutrição - Coleta de urina *spot*. 2. Cordeiros – Balanço de nitrogênio - Consumo - Digestibilidade. 3. Derivados de purinas - Taxa de filtração glomerular. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, C*ampus* de Itapetinga. II. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. III. Silva, Herymá Giovane de Oliveira. IV. Carvalho, Gleidson Giordano Pinto de. V. Título.

CDD(21): 636.085

Catalogação na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Cordeiros – Nutrição - Coleta de urina *spot*
2. Cordeiros – Balanço de nitrogênio - Consumo - Digestibilidade
3. Derivados de purinas - Taxa de filtração glomerular

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-*BA*

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "Fontes energéticas e métodos de coleta de urina em ensaios de nutrição com cordeiros".

Autor (a): Taiala Cristina de Jesus Pereira
Orientador (a): Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Co-orientador (a): Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:

Profª. Drª Mara Lúcia Albuquerque Pereira - UESB

Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva – UESB

Drª Ana Paula Gomes da Silva – PNPD/UESB

Prof. Dr. Aureliano José Vieira Pires - UESB

Prof. Dr. Douglas dos Santos Pina – UFBA

Data de realização: 14 de Outubro de 2015.

"Para ter sucesso, é necessário amar de verdade o que se faz.
Caso contrário, levando em conta apenas o lado racional, você simplesmente desiste.
É o que acontece com a maioria das pessoas."

Steve Jobs

"O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é CORAGEM."

João Guimarães Rosa

Aos meus amados pais, Antônio Gonçalves Pereira e Joseilda de Jesus Pereira, como honra à credibilidade em mim depositada.

DEDICO...

À Profª Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela orientação, pela significativa contribuição em minha formação pessoal e científica, desde a iniciação científica. Pelo exemplo de profissional que levarei para vida toda, e que usarei o essencial para me tornar uma pessoa cada vez melhor. A ela agradeço também a amizade, pois nestes anos de convívio não tive somente uma orientadora, mas uma amiga, que soube me entender e me escutar nas horas em que mais precisei, e deixando claro, que jamais perderia a confiança em mim e no meu trabalho.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, minha fortaleza, por sempre me abençoar, iluminar e guiar os meus caminhos;

Ao meu pai, Antônio Gonçalves Pereira, por me fazer acreditar que o estudo sempre será a única herança que ele pode me conceder, pelos conselhos sábios sempre bem-vindos, e por me fazer acreditar que, com paciência em saber esperar, alcançarei os meus sonhos;

À minha mãe, Joseilda de Jesus Pereira, pelo amor concedido, pela educação imposta, pelo apoio, incentivo e pelas conversas nas horas difíceis, por ser o meu espelho, o meu alicerce, o meu porto seguro;

A todos os familiares, pela torcida, incentivo e apoio prestado em todo momento;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, pela grandiosidade e oportunidades;

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por me proporcionar o crescimento profissional, e tornar mais um sonho em realidade;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, pela concessão da bolsa de estudo e por reconhecer o mérito científico desse estudo, promovendo a sua viabilização;

À professora Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pelas inúmeras oportunidades, pelos valiosos ensinamentos, pela constante orientação, pela confiança em mim depositada e amizade nestes dez anos de intensa convivência. Registro aqui meu sincero MUITO OBRIGADA!

Ao professor Herymá Giovane de Oliveira Silva, pela co-orientação, amizade, por todos os conselhos profissionais e de vida que sempre me fez pensar ao longo dos meus estudos, além do fundamental auxílio na realização das análises estatísticas;

Ao professor Gleidson Giordano Pinto de Carvalho, pela co-orientação, amizade, críticas, sugestões e elogios em momentos oportunos, que serviram de estímulos;

À Ana Paula Gomes da Silva, aos professores Douglas dos Santos Pina e Aureliano José Vieira Pires, pela participação na banca e pelas contribuições relevantes para melhoria da Tese;
Ao amigo e professor César Augusto Ramos Pereira (Tio), pela amizade, confiança, apoio e pelos deliciosos momentos de descontração;

À CEPLAC, em nome da pesquisadora Maria das Graças Conceição Parada Costa Silva, pela parceria e auxílio na elaboração da farinha de pupunha;

À Empresa INACERES, em nome do Dr. Manoel Aboboreira e do senhor Gleison Murilo, pela disponibilidade em fornecer a polpa dos frutos de pupunha;

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IF Baiano, Campus Uruçuca, pelo apoio, disponibilizando sua estrutura física para a confecção da farinha de pupunha;

Aos colegas que ajudaram na montagem e condução do experimento: Alana, Daiane, Jeruzia, Larisse, Leandro, Fabiano, Fernando, Samille e Tárcio,pela amizade, convivência e pelos momentos de descontração e divertimento proporcionados;

A todos os meus amigos e colegas de pós-graduação, em especial, Alana e Leandro, pela amizade, agradável convivência e por serem companhias durante a condução deste trabalho no campo.

Ao Laboratório de Fisiologia Animal- LAFA, na pessoa da professora Mara Lúcia Albuquerque Pereira, meu eterno laboratório, ambiente de grande aprendizado, onde vivi os melhores anos da minha vida acadêmica!

Ao Laboratório de Forragicultura e Pastagem, na pessoa do amigo José Queiroz (Chefe), pela grande colaboração, pela excelente e agradável convivência;

Aos animais utilizados nesta pesquisa, por todo sacrifício em prol da ciência;

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

TAIALA CRISTINA DE JESUS PEREIRA, filha de Antônio Gonçalves Pereira e Joseilda de Jesus Pereira, nascida na cidade de Taperoá, Bahia, em 19 de dezembro de 1981.

Em 2005, ingressou no curso de graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Bahia, onde obteve o título de Zootecnista, colando grau em 16 de janeiro de 2010.

Em março de 2010, ingressou no Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção de Ruminantes, pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, defendendo a dissertação em 02 de abril de 2012.

Em abril de 2012, ingressou no Doutorado em Zootecnia, área de concentração em Produção de Ruminantes, pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, concluindo o curso em 14 de outubro de 2015.

SUMÁRIO

		Página
	LISTA DE TABELAS	xiii
	RESUMO	xvi
	ABSTRACT	xix
I-	REFERENCIAL TEÓRICO	22
	1.1. Métodos de coleta de urina para ensaios nutricionais	22
	1.2. Referências	27
II-	OBJETIVOS GERAIS	30
	2.1 Objetivos específicos	31
III-	CAPÍTULO I- Excreções diárias de creatinina e de compostos nitrogenados por cordeiros alimentados com níveis de farinha de pupunha na dieta	32
	Resumo	32
	Abstract	33
	Introdução	35
	Material e métodos	37
	Resultado e discussão	43
	Conclusões	55
	Considerações Finais	56
	Referências	57
IV-	CAPÍTULO II - Excreções diárias de creatinina e de compostos nitrogenados por cordeiros alimentados com diferentes fontes energéticas na dieta	60
	Resumo	60
	Abstract	61
	Introdução	62
	Material e métodos	64
	Resultados e discussão	70
	Conclusões	82
	Referências	83
V-	CAPÍTULO III- Fontes energéticas em dietas de cordeiros em confinamento	86
	Resumo	86
	Abstract	87
	Introdução	88
	Material e métodos	90
	Resultados e discussão	97
	Conclusões	110
	Referências	111

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1. Composição percentual dos ingredientes da dieta (% na MS)..... 37

TABELA 2. Composição químico-bromatológica do feno de Tifton 85 e dos concentrados e da farinha de pupunha..... 38

TABELA 3. Composição químico-bromatológica das dietas experimentais..... 39

TABELA 4. Médias de quadrados mínimos para o consumo de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e nutrientes digestíveis totais em cordeiros alimentados com dietas contendo farinha de pupunha em substituição ao milho..... 43

TABELA 5. Médias, (EPM) erro padrão média e (P) valor de probabilidade do volume urinário, excreção de creatinina e de compostos nitrogenados em função do tempo de duração de coleta de urina..... 45

TABELA 6. Médias, (EPM) erro padrão da média e (P) valor de probabilidade do volume urinário, excreção e concentração de creatinina e de compostos nitrogenados e taxa de filtração glomerular por cordeiros alimentados com dietas contendo farinha de pupunha em substituição ao milho..... 47

TABELA 7. Médias de quadrados mínimos e valores de probabilidade dos efeitos de tratamento, tempo e interação tratamento x tempo da excreção de metabólitos urinários utilizando a coleta total e urina *spot* obtida a cada 4 horas, de cordeiros alimentados com dietas contendo farinha de pupunha em substituição ao milho..... 50

TABELA 8. Valores de probabilidade dos efeitos de tratamento, tempo e interação tratamento x tempo da excreção de metabólitos utilizando a coleta de urina *spot* obtida a cada 4 horas, de cordeiros alimentados com dietas contendo farinha de pupunha em substituição ao milho..... 53

CAPÍTULO 2

TABELA 1. Composição percentual dos ingredientes da dieta (% na MS)..... 65

TABELA 2. Composição químico-bromatológica do feno de Tifton 85 e dos concentrados..... 66

TABELA 3. Composição químico-bromatológica das dietas experimentais..... 67

TABELA 4. Médias de quadrados mínimos para o consumos de matéria seca, proteína bruta e nutrientes digestíveis totais de cordeiros alimentados com diferentes fontes energéticas no concentrado..... 70

TABELA 5. Médias, (EPM) erro padrão da média e (P) valor de probabilidade do volume urinário, excreções de creatinina e de compostos nitrogenados obtidos em função do tempo de duração de coleta de urina..... 72

TABELA 6. Médias, (EPM) erro padrão média e (P) valor de probabilidade do volume urinário, excreção de creatinina e de compostos nitrogenados de cordeiros alimentados com diferentes fontes energéticas..... 74

TABELA 7. Médias de quadrados mínimos e valores de probabilidade dos efeitos de tratamento, tempo e interação tratamento x tempo da excreção de metabólitos urinários utilizando a coleta total e urina *spot* obtida a cada 4 horas, de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas..... 78

TABELA 8. Valores de probabilidade dos efeitos de tratamento, tempo e interação tratamento x tempo da excreção de metabólitos urinários utilizando a coleta de urina *spot* obtida a cada 4 horas, de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas..... 80

CAPÍTULO 3

TABELA 1. Composição percentual dos ingredientes da dieta (% na MS)..... 91

TABELA 2. Composição químico-bromatológica do feno de Tifton 85 e dos concentrados..... 92

TABELA 3. Composição químico-bromatológicadas dietas experimentais..... 93

TABELA 4. Média de quadrados mínimos para os consumos de matéria seca e nutrientes em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado..... 98

TABELA 5. Média de quadrados mínimos para os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado..... 101

TABELA 6. Média de quadrados mínimos para variação do peso corporal de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado..... 102

TABELA 7. Média de quadrados mínimos para excreções diárias de ureia e nitrogênio ureico na urina, concentração de nitrogênio no plasma, excreção fracional e *clearance* de ureia em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado..... 103

TABELA 8. Média de quadrados mínimos do balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado..... 105

TABELA 9. Volume urinário, excreção de derivados de purinas, purinas totais e absorvidas, derivados de purinas (% PT), síntese de proteína microbiana e eficiência microbiana em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado..... 107

RESUMO

PEREIRA, Taiala Cristina de Jesus. **Fontes energéticas e métodos de coleta de urina em ensaio de nutrição com cordeiros.** Itapetinga-BA: UESB, 2015. 114p. (Tese–Doutorado em Zootecnia – Área de concentração em Produção de Ruminantes).*

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de dois experimentos conduzidos de forma simultânea, no qual foram geradas informações que serão apresentadas na forma de três capítulos. **No primeiro Capítulo** objetivou-se avaliaras variações nas excreções diárias de creatinina e compostos nitrogenados na urina, utilizando coletas durante quatro dias consecutivos, bem como comparar dois métodos de coleta, utilizando a coleta de urina *spot* em intervalos de 4 horas com a coleta de urina total em cordeiros alimentados com níveis de farinha de pupunha (0, 10, 40, 60 e 85%) em substituição ao milho na MS da dieta. Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD com idade média de quatro meses e peso corporal ao início do experimento de 17,93 ± 2,03 kg. Os animais foram distribuídos em um delineamento em quadrado Latino 5 x 5, com cinco tratamentos e cinco repetições, recebendo dietas compostas por 30% de feno de capim Tifton 85 e 70% de concentrado. As dietas foram formuladas para atender às exigências nutricionais para ganho de peso de 250g/dia. O experimento teve duração de 95 dias, sendo compostos de cinco períodos de 19 dias cada. A dieta foi fornecida duas vezes ao dia, pela manhã, às 07h00min, e à tarde, às 16h00min. Durante cada período experimental, foram realizadas pesagens dos alimentos fornecidos e das sobras, coleta de urina total e coleta de urina *spot* dos animais. As coletas de urina total foram realizadas utilizando-se gaiolas metabólicas, sendo determinado o volume urinário diário. O volume urinário e a excreção diária de creatinina não foram influenciados pelo tempo de duração de coleta, entretanto, observou-se efeito significativo dos níveis de inclusão da farinha de pupunha. A taxa de filtração glomerular sofreu alterações em função dos níveis de adição da farinha de pupunha nas dietas experimentais. Não foi observado efeito significativo dos níveis de farinha de pupunha sobre a excreção de derivados de purinas e o *índice* DPC, quando se utilizou coleta de urina total, no

entanto, para o método de amostragem de urina *spot*, foi detectado efeito das dietas. Concluiu-se que o período de coleta de urina de 24 horas é suficiente para experimentos utilizando cordeiros. Como a taxa de filtração glomerular foi alterada pela dieta, a coleta de amostra de urina *spot*, 4h00 após a alimentação matinal, é mais precisa que a coleta de urina total durante 24 horas, porém, o método de coleta de urina *spot* necessita de avaliação. **No segundo Capítulo,** de forma semelhante, avaliaram-se as variações nas excreções diárias de creatinina e compostos nitrogenados na urina utilizando coletas durante quatro dias consecutivos, bem como comparar dois métodos de coleta, a coleta de urina *spot* em intervalos de 4 horas e a coleta de urina total em cordeiros alimentados com diferentes fontes energéticas no concentrado (milho, sorgo, farelo de trigo, farelo de algaroba e farinha de pupunha). Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD com idade média de quatro meses e peso corporal ao início do experimento de 22,85 ± 1,0 kg. Os animais foram distribuídos em um delineamento em quadrado Latino 5 x 5, com cinco tratamentos e cinco repetições, recebendo dietas compostas por 60% de feno de capim Tifton 85 e 40% de concentrado. O experimento teve duração de 95 dias, sendo compostos de cinco períodos de 19 dias cada. As dietas foram formuladas para atender às exigências nutricionais para ganho de peso de 200g/dia. O volume urinário e a excreção diária de creatinina não foram influenciados pelo tempo de duração de coleta, e também não se observou efeito significativo das fontes energéticas. A taxa de filtração glomerular não sofreu alterações em função das diferentes fontes energéticas das dietas experimentais. Foi observado efeito significativo das fontes sobre a excreção de derivados de purinas e *índice* DPC, quando se utilizou urina total, no entanto, para o método de amostragem de urina *spot* não foi detectado efeito das dietas. Para excreção de ureia, foi observado efeito significativo das dietas em ambos os métodos e, para os compostos nitrogenados totais, a coleta de urina total em 24 horas foi eficiente em detectar diferenças entre dietas. Assim, concluiu-se que a obtenção da excreção de derivados de purinas por meio da coleta de urina com duração de 24 horas é mais acurada. **No terceiro Capítulo,** objetivou-se avaliar o consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes, variação do peso corporal, balanço de nitrogênio, excreção de ureia e a síntese de proteína microbiana de cordeiros, alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas (milho, farelo de trigo, sorgo, farelo de algaroba e farinha de pupunha) no concentrado. Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, com peso corporal de 22,85±1,0 kg ao início do experimento, distribuídos em um

quadrado Latino 5 x 5, com 5 períodos de 19 dias de duração cada. As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas, contendo 16,2% de proteína bruta, compostas por 60% de feno de capim-Tifton 85 e 40% de concentrado. As dietas foram formuladas para atender às exigências nutricionais para ganho de peso 200g/dia. Os animais alimentados com as dietas contendo sorgo e farelo de algaroba como fontes energéticas apresentaram consumo de matéria seca superior à farinha de pupunha. As digestibilidades aparentes da MS, MO, PB, CNF_{cp} e NDT foram semelhantes entre as fontes energéticas avaliadas. A excreção de ureia e nitrogênio ureico na urina apresentaram efeito significativo ($P<0,05$), sendo que dieta contendo farelo de algaroba apresentou média superior em comparação às demais. As médias da concentração de nitrogênio ureico plasmático diferiram entre si, sendo que a dieta contendo farinha de pupunha apresentou menor média, quando comparado com o milho, farelo de trigo, sorgo e farelo de algaroba. Dieta contendo farinha de pupunha como fonte energética proporciona menor excreção de nitrogênio na urina e balanço de nitrogênio negativo. Os animais alimentados com a dieta contendo farelo de algaroba (80,38 g/dia) apresentam síntese de proteína microbiana superior à farinha de pupunha (24,47 g/dia). As fontes energéticas contendo farelo de trigo, sorgo e farelo de algaroba podem substituir o milho em dietas para cordeiros em confinamento.

Palavras-chave: balanço de nitrogênio, coleta de urina *spot*, consumo, derivados de purinas, digestibilidade, taxa de filtração glomerular.

---

*Orientadora: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Drª. UESB e Co-orientadores: Herymá Giovane de Oliveira Silva,Dr. UESB e Gleidson Giordano Pinto de Carvalho, Dr. UFBA.

ABSTRACT

PEREIRA, Taiala Cristina de Jesus. **Energy sources and urine-collection methods in test of nutrition with lambs.** Itapetinga-BA: UESB, 2015.114p. (Thesis –Animal Science Graduate Program – Ruminant Production Major).*

The present study was developed from two experiments conducted at the same time, which generated information that will be presented in three chapters. In the **first Chapter**, variations in the daily excretions of creatinine and nitrogen compounds in the urine were quantified through collections performed in four consecutive days as well as through the comparison of two collection methodologies, using spot urine collection in 4-h intervals and total urine collection in lambs fed diets containing levels of peach palm meal (0, 10, 40, 60, and 85% of the dietary DM) substituting corn. Five Santa Inês × undefined-breed crossbred lambs at an average age of four months, with 2.03 kg average body weight of at the beginning of the experiment, were used. Lambs were distributed in a 5 × 5Latin square design with five treatments and five replicates, receiving diets comprised of 30% Tifton 85 hay and 70% concentrate. Diets were calculated to meet the nutritional requirements for a weight gain of 250g/day. The experimental period was 95 days, consisting of five 19-day periods. The diet was supplied twice daily: in the morning, at 07h00, and in the afternoon, at 16h00. During each experimental period, the feed supplied and the leftovers were weighed, and total urine and spot urine collections were performed. For the comparison between the collection days, analysis of variance was employed as a tool to isolate the pure error, adopting the model composed of the random effects of animal and period, and the fixed effect of evaluation day. Urine collections were performed using metabolic cages, and the daily urinary volume was determined. The urinary volume and daily excretion of creatinine were not influenced by the collection days; however, a significant effect of the levels of inclusion of peach palm meal was observed. The glomerular filtration rate was altered by the levels of addition of the peach palm meal to the experimental diets. No significant effect of the levels of peach palm meal was observed on the excretion of purine derivatives and CDP index when total urine collection was adopted; however, diet effect was observed with the spot urine sampling method. In conclusion, the urine

collection period of 24 h is sufficient for experiments with lambs. Because the GFR was altered by the diet, the spot urine sample collection, 4 h after the morning feeding, is more precise than the total urine collection during 24 h, but the spot collection methodology requires evaluation. Similarly, in the **second Chapter** variations in the daily excretions of creatinine and nitrogen compounds in the urine were evaluated through collections performed for four consecutive days, and two collection methodologies were compared: spot urine collection in 4-h intervals, and total urine collection, in lambs fed diets containing different sources of energy (corn, sorghum, wheat bran, mesquite pod meal, and peach palm meal). Five Santa Inês × undefined-breed crossbred lambs at an average age of four months and weighing 22.85±1.0 kg at the beginning of the experiment were used. The animals were distributed in a 5×5 Latin square design with five treatments and five replicates, receiving diets composed of 60% Tifton 85 hay and 40% concentrate. The experimental period was 95 days, consisting of five 19-day periods. Diets were calculated to meet the animals' energy requirements for maintenance as recommended by the NRC (2007) for growing sheep. The urinary volume and the daily excretion of creatinine were not influenced by the collection days, and no significant effect of the sources of energy was observed, either. The glomerular filtration rate was not altered by the different sources of energy of the experimental diets. A significant effect ($P<0.05$) of the sources was observed on the excretion of purine derivatives and CDP index when total urine was adopted; however, no effect of diets was detected through the spot urine sampling method. Regarding the excretion of urea, a significant effect of the diets was observed in both methodologies, and for the total nitrogen compounds, total urine in 24 h was efficient in detecting differences between diets. In conclusion, obtaining the excretion of purine derivatives through a 24-h urine collection is a more accurate method. **In the chapter three** the objective was to evaluate the intake, apparent digestibility of nutrients, body weight variation, nitrogen balance, urea excretion and the microbial protein synthesis lambs fed diets containing different energy sources (corn, sorghum, wheat bran, mesquite pod meal, and peach palm meal). Five Santa Inês × undefined-breed crossbred lambs at an average age of four months and weighing 22.85 ± 1.0 kg at the beginning of the experiment were used. The animals were distributed in a 5 × 5 Latin square (LS) design with five treatments and five replicates, receiving diets composed of 60% Tifton 85 hay and 40% concentrate. The experimental period was 95 days, consisting of five 19-day periods.

Diets were calculated to meet the nutritional requirements for a weight gain of 200 g/day. The animals fed diets containing sorghum and mesquite pod meal as energy sources showed higher dry matter intake the peach palm meal. The apparent digestibility of DM, OM, CP, NFCcp and TDN were similar between the evaluated energy sources. The excretion of urea and urea nitrogen in urine showed significant effect, with diet containing mesquite pod meal showed higher average compared to others.The mean plasma urea nitrogen concentration differed, and the peach palm meal-containing diet showed lower average when compared with corn, wheat bran, sorghum and mesquite pod meal. Diet containing peach palm meal as an energy source provides less nitrogen excretion in urine and negative nitrogen balance. The animals fed with diets containing mesquite pod meal (80.38 g/day) showed upper microbial protein synthesis to peach palm meal (24.47 g/day).

Key words: digestibility, glomerular filtration rate, intake, nitrogen balance, purine derivatives, *spot* urine collection.

---

*Advisor: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Drª. UESB, andco-advisors: Herymá Giovane de Oliveira Silva, Dr. UESB and Gleidson Giordano Pinto de Carvalho, Dr.UFBA.

I–REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Métodos de coleta de urina para ensaios nutricionais

A quantificação da síntese de proteína microbiana é mais que necessária, devido à grande importância que os microrganismos bacterianos exercem na digestão e degradação da fibra, além de conferir ao animal proteína microbiana de alto valor nutricional (CANESIN et al., 2012).

A composição aminoacídica da proteína microbiana é similar a da proteína dos tecidos do próprio animal, bem como da proteína encontrada no leite. Em comparação à composição da proteína de concentrados proteicos de origem vegetal, a proteína microbiana contém maior proporção de metionina e lisina (após a proibição da utilização de alimentos de origem animal em dietas destinadas a ruminantes no Brasil) e não existem fontes que atendam melhor aos requerimentos aminoacídicos do animal que a proteína microbiana (VERBIC, 2002).

Diante de tais características, tem sido objetivo em estudos de alimentação para ruminantes, maximizar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado, aumentando, assim, a eficiência produtiva. Portanto, é fundamental o estudo de métodos que permitam estimar a produção de proteína microbiana de forma rápida e rotineira em rebanhos (BARBOSA et al., 2006).

A estimativa de síntese microbiana ruminal pode ser obtida por meio de indicadores internos, que estão naturalmente presentes em célula microbiana, tais como o RNA (ácido ribonucleico) e DAPA (ácido diaminopimélico) ou externos, que são introduzidos na célula microbiana durante seu crescimento, como os isótopos de ^{35}S e o ^{15}N (BRODERICK & MERCHEN, 1992). Para isso, esses métodos requerem a utilização de animais fistulados e a determinação do fluxo da matéria seca no abomaso. Porém, essas técnicas são laboriosas e podem comprometer o bem estar animal, portanto, seria mais adequado o desenvolvimento de métodos não invasivos para tais fins.

Ao longo dos últimos anos, tem sido demonstrado que coletas de urina têm grande aplicação na quantificação da proteína microbiana no rúmen, através da excreção urinária de derivados de purinas (DP), ou seja, alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico. O primeiro trabalho relatado na literatura neste tópico foi datado em 1931. No entanto, maior progresso foi feito a partir de 1980, julgado a partir da literatura disponível.

Pesquisadores franceses Torronine & Mourot (1931) observaram que excreção de alantoína na urina de ovinos aumentou com o nível de ingestão de proteínas. Em seu estudo, fez a seguinte pergunta: “A alantoína excretada na urina por mamíferos têm origem a partir da degradação parcial de proteínas?”.

Morris & Ray (1939) descobriram que a alantoína e ácido úrico na urina diminuíram durante uma inanição de 7 dias em ovelhas, cabras e vacas, e ainda confirmaram que estes metabólitos foram associados com alguns fatores dietéticos.

Blaxter & Martin (1962) infundiram caseína no rúmen e abomaso de ovinos e observaram uma excreção de alantoína elevada apenas com a infusão ruminal. O resultado deste estudo indicou que o fator desconhecido foi associado com fermentação no rúmen. Esses autores concluíram que o aumento da excreção de alantoína foi devido a uma maior extensão do crescimento microbiano, quando a proteína adicional foi fornecida no rúmen.

A estreita relação entre a produção microbiana no rúmen e a excreção de DP, primeiramente descrita por Blaxter & Martin, em 1962, e Topps & Elliot, em 1965 (FUJIHARA et al., 1987), foi confirmada por outros pesquisadores (PEREZ et al., 1996; CHENet 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.

No método baseado na excreção de DP, considera-se que o fluxo duodenal de ácidos nucleicos e seus derivados são majoritariamente de origem microbiana, os quais são largamente digeridos e absorvidos no intestino delgado, sendo as bases purinas, catabolizadas para seus derivados, e excretados na urina, principalmente como alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (PEREZ et al., 1996). Portanto, a quantidade de DP presente na urina pode ser utilizada para estimar o fluxo

de purinas microbianas no duodeno (GEORGE et al., 2011), quantificando, assim, a absorção intestinal de aminoácidos de origem microbiana.

Na urina de bovinos, apenas alantoína e ácido úrico estão presentes, devido à alta atividade no sangue e nos tecidos da enzima xantina oxidase, que converte xantina e hipoxantina em ácido úrico antes da excreção. Ovinos e caprinos, no entanto, excretam quantidades substanciais de xantina e hipoxantina, em virtude da menor atividade da enzima xantina oxidase no plasma (BELENGUER et al., 2002).

Em princípio, a determinação da excreção diária de urina é fator essencial para se estimar a excreção total de DP, técnica laboriosa como rotina experimental. O tempo de coleta necessário para obtenção de amostras representativas da condição do animal tem variado bastante entre estudos. Chen & Gomes (1992) afirmaram que, para reduzir erros decorrentes de variações na produção urinária, as coletas de urina deveriam ser feitas durante pelo menos cinco dias. Poucos experimentos, nos quais avaliaram dias de coleta de urina em ovinos, foram descritos. Nesses estudos, registraram-se tempos variando entre nove dias (SIDDONS et al., 1985), cinco dias (CRUZ SOTO et al., 1994) a três dias (COTO et al., 1988).

Estudos com bovinos, Fleming et al. (1991), Valadares et al. (1997) e Leal et al. (2007) demonstraram que o período de coleta com duração de 24 horas poderia ser representativo da condição excretória do animal, dispensando a coleta de urina durante períodos longos. Segundo Barbosa et al. (2006), o período de coleta de urina de 24 horas é suficiente para a avaliação da excreção diária de bovinos Nelore, independentemente de serem novilhas, machos castrados, ou machos não-castrados ou vacas em lactação. Entretanto, avanços nas pesquisas avaliando esse mesmo tempo de coleta de urina com ovinos são escassos, havendo necessidade de pesquisas para avaliar o uso da coleta em 24 horas de duração.

A excreção de DP na urina é considerada uma ferramenta promissora, uma vez que ultrapassa as desvantagens de outros métodos convencionais, ou seja, a utilização de animais intactos. No entanto, a exigência de coleta total de urina durante vários dias em cada período experimental limita o uso desta técnica em situações de pastejo (maior parte do rebanho brasileiro é criada a pasto). Nesse contexto, é importante o desenvolvimento de métodos que permitam o menor tempo possível de coleta de urina, ou até mesmo que tornem desnecessária a coleta de urina total.

Segundo Valadares et al. (1997), é possível simplificar a coleta de urina utilizando-se a excreção de creatinina na urina como indicador da produção urinária diária. Assim, pode-se coletar uma amostra isolada, denominada amostra de urina *spot*, o que pode simplificar a estimação da produção de urina em condições de campo. A utilização da urina *spot* se baseia na relativa constância da excreção de creatinina por unidade de peso.

A creatina é uma substância sintetizada nos músculos e seu metabólito (creatinina) pode ser excretado pela urina, em função relativamente constante na proporção de massa muscular (VALADARES et al., 1997). Sendo assim, uma vez determinada a excreção diária de creatinina em relação ao peso do animal e, considerando esta concentração constante ao longo do dia, é possível estimar o volume urinário excretado a partir da concentração de creatinina em apenas uma amostra de urina coletada de um animal de peso conhecido. Entretanto, podem existir possíveis variações na excreção de derivados de purina ao longo do dia, após a ingestão de alimentos, o que inviabilizaria a obtenção de única amostra de urina *spot* a qualquer hora do dia.

Chen et al. (1992) avaliaram a variação da concentração de creatinina e DP no soro e na urina de quatro novilhas, com peso médio de 204 kg. Foram detectadas variações nas concentrações urinárias de creatinina e DP ao longo do dia (08h00-12h00, 12h00-16h00, 16h00-20h00, 20h00-00h00, 00h00-08h00), porém, as variações da concentração de creatinina foram similares às variações das concentrações de DP e devido à diferença no volume de urina excretado naqueles intervalos. Dessa forma, uma mudança no volume urinário pode alterar a concentração sem alterar a excreção diária de creatinina e DP e a relação DP: creatinina. Segundo os autores, a relação DP: creatinina é pouco afetada por variações diurnas e, portanto, a coleta de urina *spot* pode ser utilizada para estimar a produção de proteína microbiana no rúmen.

A relação entre as concentrações de DP: creatinina em amostras de urina *spot* não apresentou diferença significativa, quando obtidas em coletas a intervalos de uma hora, sendo linearmente correlacionada com a excreção diária de DP, o que torna possível a utilização da amostra de urina *spot* para estimar a excreção diária de DP (CHEN et al. (1995).

Liu & McMeniman (2006), ao avaliarem a oscilação diurna da relação DP: creatinina em uma única amostra de urina *spot* em relação à média diária encontraram

um coeficiente de variação de 7%, quando os animais foram alimentados uma vez ao dia e 8,6%, quando alimentados duas vezes ao dia. Contudo, quando foram realizadas duas amostras de urina *spot* com intervalos de 12 horas, esse coeficiente de variação caiu para 3,4 e 2,7%, respectivamente, sugerindo a necessidade de ao menos duas amostras com intervalo de 12horas, quando se espera detectar pequenas diferenças na síntese de proteína microbiana.

Vários trabalhos na literatura com bovinos (RENNÓ et al., 2008; CHIZZOTTI et al., 2007; BARBOSA et al., 2006) demonstraram que a coleta de urina *spot* consiste em método rápido e eficaz para estimar a excreção urinária dos derivados de purinas e síntese de proteína microbiana. Entretanto, pesquisas avaliando a sensibilidade da coleta de urina *spot* em caprinos e ovinos são escassas e os poucos trabalhos que se encontram na literatura, com estas espécies, têm demonstrado baixa acurácia da coleta de urina por amostragem.

Pereira et al. (2008), em pesquisa com cabras lactantes, alimentadas com níveis de substituição do milho pelo farelo de algaroba, compararam métodos de coleta (urina total e *spot*) e concluíram que a coleta de urina *spot* apresenta pouca representatividade ao ciclo de 24 horas, sendo necessário mais estudo para sua avaliação. Enquanto Pereira et al. (2013b) avaliaram a excreção de derivados de purina em intervalos de 2 a 24 horas, em cabras lactantes alimentadas com farelo de algaroba associado a diferentes fontes proteicas, e sugeriram a obtenção de apenas uma amostra representativa ao ciclo de 24 horas, 4h00 após a primeira alimentação matinal para a estimação de síntese de proteína microbiana.

A partir da interpretação dos resultados obtidos por esses autores, considera-se que, quando se avalia métodos de coleta de urina de animais alimentados com uma mesma fonte (energética ou proteica) e modifica-se apenas níveis da inclusão de um determinado alimento, a obtenção de uma única amostra de urina é pouco representativa ao ciclo de 24 horas, sendo interessante, entretanto, avaliar a representatividade em um ciclo de 24 horas de coletas de urina, obtidas tanto de animais que receberam diferentes alimentos energéticos, quanto dos que receberam níveis de substituição parcial ao milho.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado a partir de dois experimentos conduzidos simultaneamente, objetivando-se quantificar as variações nas excreções diárias de creatinina e compostos nitrogenados na urina, utilizando coletas

durante quatro dias consecutivos, bem como comparar dois métodos de coleta, utilizando a coleta de urina *spot* em intervalos de 4 horas com a coleta total de urina em cordeiros alimentados com níveis de farinha de pupunha (0, 10, 40, 60 e 85%) em substituição ao milho na MS da dieta e diferentes fontes energéticas no concentrado (milho, sorgo, farelo de trigo, farelo de algaroba e farinha de pupunha).

1.2. Referências

BARBOSA, A.M.;VALADARES, R.F.D.;VALADARES FILHO, S.C. VERAS, R. M.L DETMANN, E. PAULINO, M.F. MARCONDES, M.I. SOUZA, M.A. Effect of urinary collection days, concentrate levels and protein sources on creatinine, urea and purine derivatives excretions and microbial protein synthesis in Nellore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 35: p.870-877, 2006.

BELENGUER, A., YAÑEZ, D.,BALCELLS, J., OZDEMIR BABER, N.H., GONZALEZ RONQUILLO, M. Urinary excretion of purine derivatives and prediction of rumen microbial outflow in goats. **Livestock Production Science**, v. 77, p.127-135, 2002.

BLAXTER, K.L., MARTIN, A.K., The utilization of protein as a source of energy in fattening sheep. **British Journal Nutrition**. v. 16: p.397-407, 1962.

BRODERICK, G.A. e MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**.v.75, n.9, p. 2618-2632.1992.

CANESIN, R.C.; FIORENTINI, G.; BERCHIELLI, T.T. Inovações e desafios na avaliação de alimentos na nutrição de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal.** Salvador, v.13, n.4, p.938-953, 2012.

CHEN, X.B., FUJIHARA, T., NAKAMURA, K., MAWUENYEGAH, P. O.,FRANKLIN, M. F and KYLE, D. J. 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., MEJIA, A.T., KYLE, D.J., ORSKOV, E.R. Evaluation of the use of the purine derivative:creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal Agriculture Science**.v.125, p.137–143, 1995.

CHEN, X.B., GRUBIC, G., ORSKOV, E.R., OSUJI, P. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. **Animal Production**.v.55, p.185–191, 1992.

CHIZZOTTI, M.L.;VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de

diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.138-146, 2007.

COTO, G.; RODRIGUES, M.M; INFANTE, F.P. et al. The effect of increasing consumption of concentrates, creatinine, creatine and alantoin in the urine of rams fed hay. **Cuban Journal Agricultural Science**, v.22, n.2, p.279-274, 1988.

CRUZ SOTO, R.; MUHAMMED, S.A.; NEWBOLD, C.J. et al. Influence of peptides, amino acids and urea on microbial activity in the rumen of sheep receiving grass hay and on growth of rumen bacteria *in vitro.* **Animal Feed Science and Technology**, v.49, n.1-2, p.151-161, 1994.

FLEMING, S.A.; HUNT, E.L.; RIVIERE, J.E. et al. Renal clearance and fractional excretion of eletrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.1, p.5-8, 1991.

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

GEORGE, S.K.; VERMA, A.K.; MEHRA, U.R.; DIPU, M.T. and SINGH,P. Evaluation of purine metabolites - creatinine index to predict the rumen microbial protein synthesis from urinary spot samples in Barbari goats. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.20, p.509–525, 2011.

GONZALEZ-RONQUILLO, M. 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.

LEAL, T.L.L; VALADARES, R.F.D; VALADARES FILHO, S.C; CAMPOS, J.M.S; DETMANN, E; BARBOSA, A. M. TEXEIRA, R.M.A; MARCONDES, M.I. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.36, n.4, p.905-911, 2007.

LIU, Z.J., MCMENIMAN, N.P. Effect of nutrition level and diets on creatinine excretion by sheep. **Small Ruminant Research**,v.63, p. 265-273, 2006.

MORRIS, S., RAY, S. C., The fasting metabolism of ruminants. **Biochemical Journal**, v.33,p.1217-1230, 1939.

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.

TERROINE, E.F., MOUROT, G., L'allantoineet les corps puriques d l'urine des mammiferes proviennent-ilspartiellement de la degradation des matieres protiques?[French].**Bulletin de La Societé de Chimie Biolique**. v. 13, p.94-109, 1931.

PEREIRA, M.L, SANTOS, A.B, DEL REI, A.J, CRUZ, J.F, ALMEIDA, P.J.P, PEREIRA, T.C.J, SANTOS, E.J, PEIXOTO, C.A.M. Excretion of purine derivatives

and nitrogen compounds in lactating goats fed other protein sources. Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production.**4th International symposium on energy and protein metabolism and nutrition**. Sacramento, California, USA.2013 (b).

PEREIRA, T.C.J.; PEREIRA, M.L.A.; SANTOS, A.B. et al. Estimação da síntese de proteína microbiana em cabras lactantes utilizando diferentes metodologias. In: V CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 2008, Aracajú - SERGIPE. **Anais...** Aracajú: Simpósio Nacional de Produção de Ruminantes, 2008. (CD-ROM).

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

RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Estimativa da produção microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n.4, p.1223-1234. 2000.

RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por meio dos derivados de purinas utilizando duas metodologias de coleta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.546-555, 2008.

SANTOS, A.B. **Farelo da vagem de algaroba associado a diferentes fontes proteicas em dietas de cabras lactantes.** Dissertação de mestrado em Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2011, 97p.

SIDDONS, R.C.; NOLAN, J.V.; BEEVER, D.E. et al. Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of. **British Journal Nutrition,** v. 54, n.1, p. 175-187, 1985.

VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997.

VERBIC, J. Factors affecting microbial protein synthesis in the rumen with emphasis on diets containing forages.**Viehwirtschaftliche Fachtagung**, 24-25.April 2002.

II – OBJETIVOS GERAIS

Capítulo 1

Comparar dois métodos de coleta de urina (urina total e *spot*) em diferentes tempos utilizando cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, alimentados com dietas contendo níveis de substituição do milho pela farinha de pupunha (0, 10, 40,60 e 85% de matéria seca da dieta).

Capítulo 2

Comparar dois métodos de coleta de urina (urina total e *spot*) em diferentes tempos utilizando cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas nas dietas.

Capítulo 3

Avaliar os efeitos das diferentes fontes energéticas (milho, farelo de trigo, sorgo, farelo de algaroba e farinha de pupunha) em dietas para cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, confinados.

III – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina e compostos nitrogenados na urina utilizando coletas durante quatro dias consecutivos;

2. Avaliar o efeito das dietas experimentais sobre a excreção urinária e concentração plasmática de metabólitos nitrogenados e taxa de filtração glomerular;

3. Comparar dois métodos de coleta utilizando a coleta de urina *spot* em intervalos de 4 horas com a coleta de urina total em cordeiros;

4. Avaliar os efeitos das diferentes fontes energéticas sobre o consumo, a digestibilidade aparente dos nutrientes, a variação do peso corporal, a excreção de ureia, o balanço de nitrogênio e a síntese de proteína microbiana de cordeiros confinados.

IV–CAPÍTULO 1

EXCREÇÕES DIÁRIAS DE CREATININA E DE COMPOSTOS NITROGENADOS POR CORDEIROS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE FARINHA DE PUPUNHA

RESUMO: Objetivou-se avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina, derivados de purinas, ureia e compostos nitrogenados totais na urina utilizando coletas durante quatro dias consecutivos, bem como comparar a excreção de creatinina e compostos nitrogenados na urina por meio de dois métodos, amostras de urina *spot* em intervalos de 4 horas, com aquela obtida via coleta de urina total em cordeiros alimentados com farinha de pupunha (0, 10, 40, 60 e 85%) em substituição ao milho na MS da dieta. Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, com peso corporal de 17,93 ± 2,03 kg. Os animais foram distribuídos em um quadrado Latino 5 x 5, constituídos de cinco períodos e cinco tratamentos, recebendo dietas compostas por 30% de feno de capim-Tifton 85 e 70% de concentrado. O experimento teve duração de 95 dias, dividido em cinco períodos de 19 dias de duração cada. As coletas de urina foram realizadas utilizando-se gaiolas metabólicas, sendo determinado o volume urinário diário. O volume urinário e a excreção diária de creatinina não foram influenciados pelo tempo de duração de coleta, entretanto, observou-se efeito significativo dos níveis de substituição do milho pela farinha de pupunha. A taxa de filtração glomerular (TFG) reduziu de forma linear em função da substituição do milho pela farinha de pupunha nas dietas experimentais. Não foi observado efeito significativo dos níveis de substituição sobre a excreção de derivados de purinas e *índice* DPC, quando se utilizou a coleta total de urina, no entanto, para o método de amostragem de urina *spot*, foi detectada efeito das dietas (P<0,05). Concluiu-se que o período de coleta de urina de 24 horas é suficiente para experimentos utilizando cordeiros. Como a taxa de filtração glomerular foi alterada pela dieta, a coleta de amostra de urina *spot*, 4h00 após a alimentação matinal, é mais precisa que a coleta de urina total durante 24 horas, porém, o método de coleta de urina *spot* necessita de avaliação.

Palavras-chave: coleta de urina, proteína microbiana, ureia, volume urinário.

IV–CHAPTER I

DAILY EXCRETIONS OF CREATININE AND NITROGEN COMPOUNDS IN LAMBS FED LEVELS OF PEACH PALM MEAL

ABSTRACT: Work aimed to evaluate variations in the daily excretions of creatinine and nitrogen compounds in the urine were quantified through collections performed in four consecutive days as well as through the comparison of two collection methodologies, using spot urine collection in 4-h intervals and total urine collection in lambs fed diets containing levels of peach palm meal (0, 10, 40, 60, and 85% of the dietary DM) substituting corn. Five Santa Inês × undefined-breed crossbred lambs at an average age of four months, with 2.03 kg average body weight of at the beginning of the experiment, were used. Lambs were distributed in a 5 × 5 Latin square design with five treatments and five replicates, receiving diets comprised of 30% Tifton 85 hay and 70% concentrate. Diets were calculated to meet the nutritional requirements for a weight gain of 250 g/day. The experimental period was 95 days, consisting of five 19-day periods. The diet was supplied twice daily: in the morning, at 07h00, and in the afternoon, at 16h00. During each experimental period, the feed supplied and the leftovers were weighed, and total urine and spot urine collections were performed. For the comparison between the collection days, analysis of variance was employed as a tool to isolate the pure error, adopting the model composed of the random effects of animal and period, and the fixed effect of evaluation day. Urine collections were performed using metabolic cages, and the daily urinary volume was determined. The urinary volume and daily excretion of creatinine were not influenced by the collection days; however, a significant effect of the levels of inclusion of peach palm meal was observed. The glomerular filtration rate was altered by the levels of addition of the peach palm meal to the experimental diets. No significant effect of the levels of peach palm meal was observed on the excretion of purine derivatives and CDP index when total urine collection was adopted; however, diet effect was observed with the spot urine sampling method. In conclusion, the urine collection period of 24 h is sufficient for experiments with lambs. Because the glomerular filtration rate was altered by the diet, the spot urine

sample collection, 4 h after the morning feeding, is more precise than the total urine collection during 24 h, but the spot collection methodology requires evaluation.

Key words: urine collection, microbial protein, urea, urinary volume.

INTRODUÇÃO

A composição aminoacídica da proteína microbiana é similar à da proteína dos tecidos do próprio animal, bem como da proteína encontrada no leite. Em comparação à composição da proteína de concentrados proteicos de origem vegetal, a proteína microbiana contém maior proporção de metionina e lisina e não existem fontes que atendam melhor aos requerimentos aminoacídicos do animal que a proteína microbiana (VERBIC, 2002).

Diante de tais características, tem sido objetivo nos estudos de nutrição e alimentação de ruminantes a maximização do fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado, aumentando, assim, a eficiência produtiva. Portanto, é fundamental o estudo de métodos que permitam estimar a síntese de proteína microbiana de forma rápida, precisa e acurada em rebanhos (BARBOSA et al., 2006).

A técnica de excreção urinária de derivados de purina é considerada uma ferramenta promissora, uma vez que minimiza as desvantagens de outros métodos convencionais, ou seja, a utilização de animais não fistulados. No entanto, a exigência de coleta de urina total durante vários dias em cada período experimental limita o uso da mesma em situações de animais em regime de pastejo. Nesse contexto, é importante o desenvolvimento de método que permita o menor tempo possível de coleta de urina, ou até mesmo que torne desnecessária a coleta de urina total.

Como uma alternativa à coleta total, vários autores (CHEN et al., 1992; VALADARES et al., 1999; CETINKAYA et al., 2006) propuseram a utilização da técnica de amostragem de urina *spot*, utilizando-se a excreção de creatinina na urina como indicador da produção urinária diária.

A creatinina é um produto metabólico do qual o corpo já não necessita, portanto, não é utilizada para formação de novas moléculas, sendo excretada pelos rins (LEAL et al., 2007). Sendo assim, uma vez determinada a excreção diária de creatinina em relação ao peso do animal e, considerando esta excreção constante ao longo do dia, é possível estimar o volume urinário excretado a partir da concentração de creatinina em apenas uma amostra de urina coletada de um animal de peso corporal conhecido. Entretanto, existem dúvidas sobre possíveis oscilações na excreção de derivados de purina ao longo do dia, após a ingestão de alimentos, o que inviabilizaria a obtenção de amostra pontual de urina *spot* a qualquer hora do dia.

Vários trabalhos na literatura com bovinos (RENNÓ et al., 2008; CHIZZOTTI et al., 2007; BARBOSA et al., 2006) demonstraram que a coleta de urina *spot* consiste em método rápido e eficaz para estimativa da excreção urinária dos derivados de purinas e síntese de proteína microbiana. Entretanto, pesquisas avaliando a acurácia da coleta pontual de urina *spot* em caprinos e ovinos são escassas e os poucos trabalhos que se encontram na literatura, com estas espécies, têm demonstrado baixa acurácia da coleta de urina por amostragem.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado objetivando-se verificar as variações nas excreções diárias de creatinina, ureia e compostos nitrogenados totais utilizando coletas de urina total durante quatro dias consecutivos, bem como comparar essas variáveis-respostas estimadas com a coleta de urina *spot* em intervalos de 4 horas, durante o período de 24 horas, com aquelas obtidas via coleta de urina total, em cordeiros alimentados com dietas contendo níveis de substituição do milho pela farinha de pupunha (0,10, 40, 60 e 85% com base na matéria seca do concentrado).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Ovinocultura do Departamento de Tecnologia Rural e Animal- DTRA, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* Juvino Oliveira, Itapetinga-BA. Localizada a 15º 09’ 07” de latitude sul, 40º 15’ 32” de longitude oeste de Greenwich e altitude média de 268 m. A temperatura e a precipitação pluviométrica média anual são, respectivamente, 27ºC e 800mm.

Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, machos não castrados, com idade média de quatro meses e peso corporal ao início do experimento de 17,93 ± 2,03 kg. Os animais foram identificados com brincos numerados, vermifugados e confinados em gaiolas metabólicas de 1,0 x 0,80 m (0,80 m²), com acesso a comedouros e bebedouros individuais, distribuídos em um delineamento em quadrado Latino 5 x 5, com cinco tratamentos e cinco repetições. O experimento teve duração de 95 dias, sendo compostos de cinco períodos de 19 dias cada (quatorze de adaptação às dietas e cinco para coleta de amostras).

As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas (15,2% PB) e de modo a permitir taxa de ganho de peso de 250 g/dia, conforme recomendação do NRC (2007) para cordeiros. As dietas testadas constituíram de níveis de substituição do milho grão moído pela farinha de pupunha (0, 10, 40, 60 e 85%) na matéria seca da dieta, sendo composta de 30% de feno de capim-Tifton 85 e 70% de concentrado. Na Tabela 1 constam a proporção dos ingredientes dos concentrados e, nas Tabelas 2 e 3, a composição do feno, dos concentrados, da farinha de pupunha e das dietas experimentais, respectivamente.

Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes da dieta (% na MS)

Ingredientes	Níveis de farinha de pupunha (%MS)				
	0	10	40	60	85
Feno de Tifton 85	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0
Milho moído	50,8	45,7	29,8	20,4	7,7
Farelo de soja	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7
Farinha de pupunha	0,0	5,1	21,0	30,4	43,1
Suplemento mineral[1]	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Total	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**

[1]Composição da mistura mineral:Cálcio:168,00 g, Fósforo: 85,00 mg, Cobre: 600,00 mg, Ferro: 1.850,00 mg, Cobalto: 45,00 mg, Iodo: 80,00 mg, Manganês:1.350,00 mg.

A farinha de pupunha foi produzida em casa de farinha do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, IF BAIANO, *campus* Uruçuca - BA. A polpa do fruto da pupunha já descaroçado foi fornecida pela Indústria de Alimentos no Mercado de Palmitos – INACERES, localizada em Uruçuca - BA. A polpa obtida foi desidratada em barcaças de secagem de cacau por três dias consecutivos, com revolvimento constante até reduzir a umidade pela metade, em seguida, desintegrada em um triturador de mandioca e, posteriormente, a massa triturada foi conduzida para o torrador de farinha mecanizado. Essa operação de torra foi realizada entre 30 e 40 minutos, com revolvimento mecânico da massa, por auxílio de rodos de madeira, até a secagem final da farinha, aproximadamente 13% de umidade. Com a perda da umidade promovida pela torração, pôde-se verificar o clareamento da massa para farinha.

Tabela 2. Composição químico-bromatológicado feno de capim Tifton 85, dos concentrados e da farinha de pupunha

Item	Feno de Tifton	Níveis de farinha de pupunha (%MS)					Farinha de pupunha
		0	10	40	60	85	
MS	92,1	93,2	92,7	93,1	92,3	93,0	92,6
MO[1]	92,0	94,7	94,4	94,7	94,5	94,5	96,8
Cinza[1]	8,0	5,3	5,6	5,3	5,5	5,5	3,2
PB[1]	5,8	18,9	19,2	19,2	17,8	18,2	8,0
PIDN[2]	38,0	28,8	30,1	25,8	28,4	22,0	5,6
PIDA[2]	22,9	9,7	5,7	8,1	2,6	0,7	20,1
EE[1]	2,3	4,3	4,5	6,7	7,0	8,7	13,6
CT[1]	83,9	70,5	71,4	70,7	72,2	70,6	75,2
CNF[1]	2,4	34,6	40,6	43,8	49,8	50,2	62,4
CNFcp[1]	7,7	36,8	42,6	45,3	51,6	51,7	63,6
FDN[1]	81,5	35,9	30,7	26,9	22,4	20,4	12,8
FDNcp[1]	76,2	33,7	28,7	25,4	20,5	18,7	11,6
FDA[1]	47,0	11,9	11,8	10,4	13,1	12,8	6,8
Hemicelulose[1]	34,5	24,0	18,9	16,5	9,3	7,6	6,0
Celulose[1]	36,7	11,6	11,5	10,0	12,7	11,3	5,8
Lignina[1]	10,3	0,3	0,3	0,4	0,4	1,5	1,0
NDT[1, 3]	47,7	81,5	82,2	85,5	87,3	87,6	98,9

1/ Valores em percentagem da MS. 2/ Valores em percentagem da PB. 3/ Estimado segundo NRC (2001)

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, sempre às 07h00min e 16h00min, *ad libitum*, de modo a permitir, no máximo, 10% de sobras na matéria natural. A água sempre foi trocada pela manhã e reabastecida à tarde. Diariamente, foram registradas as

quantidades dos alimentos fornecidos e das sobras de cada animal, para a obtenção do consumo, e, durante cada período experimental do 15° ao 19° dia, foram realizadas amostragens dos alimentos fornecidos e sobras. O consumo foi calculado pela diferença entre o fornecido e as sobras. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas -20° C para análises posteriores.

Tabela 3. Composição químico-bromatológicadas dietas experimentais

Item	Níveis de farinha de pupunha (%MS)				
	0	10	40	60	85
MS	92,9	92,5	92,8	92,2	92,7
MO[1]	93,5	93,1	93,5	93,2	93,5
Cinzas[1]	6,5	6,9	6,5	6,8	6,5
PB[1]	15,0	15,2	15,1	14,2	14,5
PIDN[2]	31,6	32,5	29,5	31,3	26,8
PIDA[2]	20,6	20,0	21,2	20,9	17,9
EE[1]	3,7	3,8	5,4	5,6	6,8
CT[1]	75,2	74,6	73,4	74,0	72,5
CNF[1]	25,6	28,7	30,1	33,9	33,8
CNFcp[1]	28,8	31,7	32,7	36,8	36,6
FDNcp[1]	46,4	43,0	40,7	37,2	35,9
FDA[1]	22,4	22,4	21,4	23,3	23,1
Hemicelulose[1]	27,1	23,6	21,9	16,9	15,6
Celulose[1]	19,2	19,0	18,0	19,9	19,0
Lignina[1]	3,3	3,3	3,4	3,3	4,1
NDT[1, 3]	71,4	71,8	74,2	75,4	75,7
EL (Mcal/kg)[3]	1,6	1,6	1,7	1,7	1,7
ED (Mcal/kg)[3]	3,1	3,2	3,3	3,3	3,3
EM (Mcal/kg)[3]	2,7	2,7	2,9	2,9	2,9

1/ Valores em percentagem da MS. 2/ Valores em percentagem da PB. 3/ Estimado segundo NRC (2001)

As análises químicas e bromatológicas dos alimentos, sobras e fezes foram realizadas no laboratório de Forragicultura e Pastagem da UESB.Nas amostras de alimentos (sobras e fornecido), foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), de acordo com a AOAC (1995). Para a fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram analisadas com alfa-amilase termoestável, sem o uso de sulfito de sódio e corrigida para cinza residual (MERTENS, 2002). A correção da FDN para os compostos nitrogenados e estimação dos conteúdos de compostos nitrogenados insolúveis nos detergentes neutro (NIDN) e ácido (NIDA) foram feitas conforme LICITRA et al. (1996). A lignina foi

obtida a partir do método descrito em Detmann et al. (2012), com o resíduo da FDA tratada com ácido sulfúrico a 72%.

Os animais foram pesados no início e no final de cada período experimental. As coletas de urina total foram realizadas diariamente, do 16° ao 19° dia de cada período, utilizando-se recipiente contendo 100 mL de uma solução de ácido sulfúrico a 20% v/v. Ao término de cada período de 24 horas de coleta, a urina foi pesada, homogeneizada e amostrada, retirando uma alíquota de 10% do volume diário em cada período, para posteriores análises. Estas amostras foram constituídas com pH abaixo de três para evitar a destruição bacteriana dos metabólitos presentes na urina e, logo após, foram armazenadas em frascos plásticos a -20ºC, as quais foram destinadas à quantificação das concentrações urinárias de creatinina, ureia, nitrogênio total, alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico.

Adicionalmente, no segundo dia de coleta de cada período experimental, 16° dia, foram coletadas amostras de urina *spot* com intervalos de quatro horas ao longo de um período de 24 horas. Neste caso, a amostragem foi feita na urina excretada espontaneamente, que estivesse presente no recipiente de coleta (sem ácido) em cada intervalo de aproximadamente quatro horas, sendo o restante sempre reservado para obtenção do volume total de urina, o qual foi realizado no mesmo dia. Ao final do período de 24 horas, o volume coletado das amostragens de urina *spot* também foi considerado para obtenção do volume diário de urina. Alíquotas de 10 mL das amostras, obtidas com as coletas por amostragem, foram diluídas em 40 mL de H_2SO_4 a 0,018M, devidamente identificadas, armazenadas a -20ºC, para posteriores análises.

Quatro horas após o fornecimento da dieta da manhã, no segundo dia da coleta total de urina, realizou-se a coleta de sangue, via punção da veia jugular, utilizando-se tubo de ensaio (*Vacutainer*^{TM}) de 5 mL com EDTA. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos, obtendo-se os plasmas sanguíneos, que foram armazenados a -20°C, para posteriores análises de ureia, creatinina, alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico.

As concentrações de creatinina, ureia e ácido úrico na urina e no plasma sanguíneo foram determinadas utilizando-se *kits* comerciais (Bioclin®). A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0, 4667, correspondente ao teor de N na ureia. Os teores urinários e plasmáticos de alantoína, xantina e hipoxantina foram determinados por intermédio de

métodos colorimétricos, conforme especificações de Chen & Gomes (1992), sendo o teor de nitrogênio total na urina obtido pelo método de Kjeldhal (SILVA & QUEIROZ, 2002).

O volume urinário estimado a partir das amostras de urina *spot* foi calculado pela excreção diária média de creatinina, encontrada no ensaio de coleta de urina total, em miligrama por quilo de peso corporal (mg/kg PC), dividida pela concentração na amostra de urina *spot*.

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico, excretadas na urina, expressas em mmol/dia, e no plasma sanguíneo as concentrações foram expressas em mmol/L.

Foi calculado o *índice* de derivados de purina: creatinina (*índice* DPC). Esse índice foi calculado utilizando-se a razão das concentrações urinárias (mmol/L) de derivados de purina e creatinina multiplicados pelo peso metabólico, conforme descrito por Chen et al. (2004) e demonstrado a seguir: *Índice* DPC = (DP/Creatinina) x PC ^{0,75}.

O experimento foi conduzido considerando o grupo de animais, uma amostra aleatória simples da população. Foi utilizado um delineamento em quadrado Latino 5 x 5 com um arranjo fatorial 5 x 4, composto por cinco tratamentos e tempo de duração de 4 dias de coletas de urina total, com cinco repetições. Para efeito de comparação entre o tempo de duração da coleta total de urina (24, 48, 72 e 96 horas), as combinações foram feitas através de cálculo matemático, usando valores observados no dia: D1= 1º dia; D2= (1º+2º dia) /2; D3= (1º+2º+3º dia) /3; D4= (1º+2º+3º+4º dia) /4; empregou-se análise de variância como ferramenta para isolamento do erro puro, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + P_i + A_j + D_k + T_l + TxD\ (P)_{ki} + TxP_{kj} + \varepsilon_{ijkl}$$

Em que: μ = média geral da variável em estudo; P_i = efeito do iésimo período; A_j= efeito do iésimo animal; D_k = efeito do iésimo tempo de coleta; T_l = efeito do tratamento; ε_{ijk}= erro residual aleatório.

As comparações entre as excreções urinárias dos compostos nitrogenados das amostras de urina *spot* com a coleta de urina de 24 horas (total) foram realizadas por meio de contrastes ortogonais ($\Sigma_i\lambda_{1i}\lambda_{2i}$=0). Contrastes ortogonais: Dieta: [1 = 0% *vs* (10 + 40 + 60 + 85%); 2 = 10% *vs* (40 + 60 + 85%); 3 = 40% *vs* (60 + 85%); 4 = 60% *vs* 85%]; Tempo: [1 = 0 horas *vs* (4 + 8 + 12 + 16 + 20+ 24 horas); 2 = 4 horas *vs* (8 + 12

+ 16 + 20 + 24 horas); 3 = 8 *vs* (12 + 16 + 20 + 24 horas); 4 = 12 *vs* (16 + 20 + 24 horas); 5 = 16 *vs* (20 + 24 horas); 6 = 20 *vs* 24 horas].

Para avaliação das excreções urinárias de compostos nitrogenados das amostras de urina *spot*, utilizou-se o delineamento em quadrado Latino (5 x 5) no esquema de medidas repetidas no tempo, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + P_i + A_j + T_k + \int_l + t_m + (Txt)_{ik} + \varepsilon_{ijklm}$$

Em que: μ = média geral da variável em estudo; P_i = efeito do iésimo período; A_j= efeito do iésimo animal; T_k = efeito do tratamento; $\int$= erro experimental do tempo; t= efeito fixo do tempo; ε_{ijk}= erro residual aleatório.

As médias obtidas foram agrupadas aplicando-se o PROC MIX do SAS (2006). Para todos os procedimentos estatísticos, adotou-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão de farinha de pupunha em substituição ao milho, em dietas para ovinos em crescimento, reduziu de forma linear a ingestão de MS e NDT em g/dia (P<0,05). O consumo de MS em g/kg de peso corporal e os consumos de MS e NDT em g/kg $PC^{0,75}$ também apresentou forma linear negativa aos níveis de farinha de pupunha (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de quadrados mínimos para o consumo de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e nutrientes digestíveis totais em cordeiros alimentados com dietas contendo farinha de pupunha, em substituição ao milho

Item	Níveis de Farinha de Pupunha					EPM	Valores de P		
	0	10	40	60	85		L	Q	C
	Consumo (g/dia)								
MS	860,0	750,0	670,0	580,0	540,0	0, 05	0, 002[1]	0, 601	0, 880
PB	120,0	100,0	90,0	80,0	80,0	0, 01	0, 053	0, 288	0, 886
EE	10,0	20,0	30,0	30,0	40,0	0, 01	0, 025[2]	0, 333	0, 465
NDT	630,0	560,0	510,0	450,0	420,0	0, 03	0, 008[3]	0, 819	0, 972
	Consumo (g/kg PC)								
MS	36,0	31,0	28,5	23,1	24,0	0, 15	0, 001[4]	0, 285	0, 588
PB	4,9	4,3	4,1	3,3	3,7	0, 02	0, 067	0, 273	0, 493
EE	0,12	0,14	0,14	0,14	0,16	0, 01	0, 033	0, 348	0, 442
NDT	26,5	22,8	21,8	18,2	18,6	0, 11	0, 059	0, 454	0, 843
	Consumo (g/kg $PC^{0,75}$)								
MS	79,0	68,4	62,5	51,3	52,1	0, 33	0, 001[5]	0, 346	0, 639
PB	10,7	94,6	89,0	74,2	80,8	0, 05	0, 062	0, 493	0, 459
EE	0,27	0,31	0,33	0,31	0,39	0, 02	0, 031[6]	0, 544	0, 665
NDT	58,0	50,4	48,0	40,6	40,4	0, 25	0, 004[7]	0, 523	0, 876
	Equação de regressão								

[1] Ŷ=802,7***- 0,0032X**
[2] Ŷ=17,2*** +0,0024X**
[3] Ŷ=603,1*** - 0,0022X**
[4] Ŷ=33,560*** - 0,1528X**
[5] Ŷ= 73,699*** - 0,3072X**
[6] Ŷ=0,3132***+0,0481X**
[7] Ŷ=54,775*** - 0,1926X*

Significativo *** (P<0, 0001); ** (P<0,01);

Visto que as dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas, os consumos de PB, nas várias formas de expressão, não foram afetados pelos níveis de inclusão da farinha de pupunha nas dietas experimentais, embora tenha havido variação do consumo de MS. Essa resposta, provavelmente, aconteceu em função da maior seletividade dos

animais, na tentativa de atenderem aos requisitos nutricionais para proteína bruta e/ou ingerirem material mais palatável.

Para o consumo de extrato etéreo, verificou-se efeito linear crescente (P<0,05), sendo que, para cada unidade percentual de milho substituído pela farinha de pupunha, verificou-se acréscimo de 0, 0024 unidades percentuais no consumo de extrato etéreo em kg/dia, comportamento que pode ser explicado pela maior concentração deste componente nutricional na dieta, que aumentou com a inclusão da farinha de pupunha, a qual apresenta maior concentração de EE em sua composição, quando comparado ao milho.

Diante dos resultados, pode-se inferir que as reduções nos consumos de MS refletiram sobre o consumo de NDT, fator que se sobrepôs ao efeito da elevação na ingestão de EE sobre esta variável. Geralmente, como o EE é a fração que fornece 2,25 vezes mais energia que os carboidratos, o nível de consumo desse nutriente afeta o consumo de NDT e energia da dieta, porém, isso não foi evidenciado neste estudo.

Não houve diferença para o volume urinário e a excreção de creatinina (P>0,05) para os tempos de duração de coleta (Tabela 5). Esses resultados são discordantes das afirmações descritas por Chen & Gomes (1992) que, para reduzir erros atribuídos a variações na produção urinária, as coletas de urina deveriam ser feitas durante pelo menos cinco dias consecutivos.

Estudos avaliando duração de coleta de urina total em ovinos são escassos, levando a comparações com outras espécies. Leal et al. (2007), ao avaliarem os tempos de coleta de urina em novilhos castrados de origem holandesa, e Barbosa et al. (2006), avaliando em bovinos Nelore de quatro categorias, não observaram efeito nos diferentes dias de coleta de urina (6 dias consecutivos) sobre a excreção diária de creatinina. Também Chizzotti et al. (2008), em pesquisa com tempos menores de coleta, não observaram efeito da duração do período de coleta de urina total (6, 9, 12, 15, 18, 21 ou 24 horas) sobre a excreção diária de creatinina.

Ausência de efeito dos tempos de coleta sobre a excreção de creatinina permite sugerir que um período de coleta de urina total com duração de 24 horas é suficiente para estimar a excreção de creatinina. Períodos mais curtos de coleta de urina são desejáveis, pois reduzem o tempo experimental e, consequentemente, o custo da pesquisa e o desconforto animal, decorrentes da utilização de sondas nas fêmeas e gaiolas metabólicas nos machos.

Foi determinada excreção diária média de creatinina na urina de 0,25 mmol/kg de peso corporal (Tabela 5). Este valor foi superior à excreção média de 0,20 mmol/kg de peso corporal, obtida por Kozloski et al. (2005) em ensaios com ovinos mestiços Texel x Ideal. Pereira (2012), em pesquisa com cordeiros mestiços Santa Inês x Dorper, obtiveram excreção média de creatinina de 0,15 mmol/ kg de peso corporal. Valores de referência para ovinos (0,46-0,52 mmol/kg PC ^{0,75}) foram descritos por Makkar (2004) para excreção diária de creatinina por unidade de peso metabólico, próximo aos encontrados neste estudo (0,55 mmol/kg PC ^{0,75}). Entretanto, diferenças entre raças e espécies são concebíveis, principalmente em função de variações no peso corporal e na proporção de massa muscular (GEORGE et al., 2006), sugerindo a cautela na generalização dos valores.

Tabela 5. Médias, erro padrão média (EPM), valor de probabilidade (P) do volume urinário, excreção de creatinina e de compostos nitrogenados em função do tempo de duração de coleta de urina

Item	Tempo de coleta (horas)				EPM	P	Interação Tr *vs* T[1]
	24	48	72	96			
	Volume Urinário						
L/dia	0,87	0,82	0,83	0,83	0, 06	0, 9800	0, 9926
	Creatinina						
mmol/dia	5,85	6,14	5,80	5,65	0, 15	0, 2232	0, 9992
mmol/ kg PC	0,25	0,26	0,25	0,24	0, 04	0, 2836	0, 9978
mmol/kgPC ^{0,75}	0,54	0,57	0,54	0,53	0, 01	0, 2624	0, 9983
	Derivados de Purina						
mmol/dia	8,28	8,55	8,58	8,51	0, 31	0, 9194	0, 9926
mmol/kg PC	0,35	0,36	0,36	0,36	0, 01	0, 9916	0, 9999
mmol/kg PC ^{0,75}	0,77	0,79	0,79	0,79	0, 02	0, 9712	0, 9999
	Ureia						
mmol/dia	452,38	482,90	458,58	450,27	22, 98	0, 5466	0, 9925
mmol/kg PC	15,40	16,56	15,64	15,29	0, 68	0, 4881	0, 9924
mmol/kg PC ^{0,75}	35,75	38,38	36,29	35,52	1, 60	0, 4887	0, 9918
	N-Ureico						
mmol/dia	211,13	225,37	214,02	210,14	10, 72	0, 5466	0, 9925
mmol/kg PC	7,19	7,73	7,30	7,13	0, 32	0, 4881	0, 9924
mmol/kg PC ^{0,75}	16,68	17,91	16,94	16,57	0, 74	0, 4887	0, 9918
	Nitrogênio Total						
g/dia	4,85	4,93	5,03	4,97	0, 18	0, 9703	0, 9998
g/kg PC	0,21	0,21	0,21	0,21	0, 01	0, 9912	0, 9973
g/kg PC ^{0,75}	0,45	0,46	0,46	0,46	0, 01	0, 9868	0, 9984
	Índice DPC						
	15,31	15,24	17,11	17,94	0, 75	0, 2368	0, 9973

Índice DPC: [derivados de purina /creatinina - mmol/L] x PC ^{0,75} (peso metabólico); [1] Tr *vs* T: interação tratamento *vs* tempo de coleta

Com relação às excreções diárias de derivados de purina, ureia, N-ureico, nitrogênio total e *índice* DPC também não foram influenciados (P>0,05) pelo tempo de coleta de urina (Tabela 5). Portanto, é possível sugerir que coletas de urina total com duração de 24 horas permitem, de modo geral, a obtenção de amostras representativas para a quantificação desses metabólitos na urina de cordeiros.

Considerando que não houve efeito significativo no tempo de coleta, as amostras de coleta de urina total por animal, durante um período de 24 horas, foram submetidas ao efeito das dietas experimentais (Tabela 6).

Para o volume urinário produzido, houve diferença significativa entre os tratamentos, expresso em litro por dia (L/dia). Com base na regressão quadrática, estimou-se que o volume urinário mínimo ocorre quando o nível de farinha de pupunha em substituição ao milho é de 42,11%. Da mesma forma, a excreção diária de creatinina (mmol/PC ^{0,75}), corrigida para peso metabólico, também sofreu alteração em função da utilização de farinha de pupunha nas dietas, a qual, segundo o modelo quadrático, possui ponto de mínimo com 50% de substituição do milho pela farinha de pupunha.

Existem dois fatores que podem provocar oscilações na concentração de creatinina e metabólitos na urina, um é o volume de urina produzido, que é dependente da ingestão de água, em que, no cálculo de excreção, o volume de urina corrige essa alteração nos teores de metabólitos. O outro fator seria a alteração na taxa de filtração glomerular (TFG), que não necessariamente traduz em variação do volume urinário. Se a dieta promove redução da TFG, poderá ocorrer diminuição da concentração dos metabólitos na urina, inclusive de creatinina, consistente ao observado neste estudo. A TFG em mL/min/PC ^{0,75} foi alterada significativamente pelas dietas, apresentando efeito linear negativo, que foi consistente com a redução na ingestão de matéria seca (Tabela 4).

A excreção de derivados de purina (DP) apresentou valores de 0,69 a 0,86 mmol/kg de peso metabólico, não se observando efeitos significativos em função das dietas. No entanto, como mostrado na Tabela 4, a ingestão voluntária de matéria seca variou entre dietas e provavelmente essas diferenças deveriam ser refletidas na excreção de DP, devido à alta correlação entre os dois parâmetros, entretanto, não pôde ser detectada na coleta de urina total.

Diante dos resultados relatados, pode-se observar que a variação na TFG pode ter sido responsável pela redução do *clearance* de DP, o que manteve a sua

concentração plasmática inalterada (Tabela 6). Inconsistente com esse resultado foi a excreção diária de DP, que não variou em função dos níveis de inclusão da farinha de pupunha.

Tabela 6. Médias, (EPM) erro padrão da média e (P) valor de probabilidade do volume urinário, excreção e concentração de creatinina e de compostos nitrogenados e taxa de filtração glomerular por cordeiros alimentados com dietas contendo farinha de pupunha em substituição ao milho

Item	Níveis de Farinha de Pupunha					EPM	Valores de P		
	0	10	40	60	85		L	Q	C
	L/dia								
VU	0,90	0,82	0,55	1,06	0,86	0, 06	0, 614	0, 008[1]	0, 083
	mmol/PC ^{0,75}								
CR	0,59	0,54	0,50	0,54	0,55	0, 01	0, 150	0, 011[2]	0, 359
DP	0,86	0,80	0,76	0,69	0,75	0, 05	0, 604	0, 264	0, 214
U	16,25	17,78	17,08	16,00	13,33	1, 19	0, 717	0, 321	0, 334
NU	7,59	8,30	7,97	7,47	6,22	0, 56	0, 717	0, 321	0, 334
	g/kg PC ^{0,75}								
NT	0,47	0,52	0,43	0,51	0,38	0, 03	0, 245	0, 281	0, 623
	mL/min/kg PC ^{0,75}								
TFG	6,72	5,56	4,61	7,86	3,60	0, 77	0, 003[3]	0, 763	0, 185
	Índice DPC								
	15,73	16,10	17,82	11,62	15,30	1, 36	0, 500	0, 450	0, 466
	Plasma mmol/L								
CR	0,04	0,05	0,05	0,06	0,08	0, 01	0,012[4]	0, 534	0, 678
DP	1,84	1,89	1,63	1,36	1,89	0, 19	0, 818	0, 456	0, 507
NU	2,66	2,72	2,78	2,88	2,52	0, 10	0, 764	0, 466	0, 601
	Clearance de DP								
	µmol/min								
	126,9	118,0	70,73	99,67	71,15	11, 9	0, 331	0, 677	0, 791
	µmol/min/PC								
	5,28	4,92	3,08	3,75	3,45	0, 47	0 048[5]	0, 512	0, 877
	µmol/min/PC^{0,75}								
	11,60	10,84	6,74	8,49	7,34	1, 04	0, 479	0, 552	0, 950

Equação de regressão

[1] $\hat{Y}$= 0,92*** - 0,016X** + 0,00019X^2**

[2] $\hat{Y}$= 0,57*** - 0,003X* + 0,00003X^2*

[3] $\hat{Y}$=5,88*** – 0,027X**

[4] $\hat{Y}$=0,04*** + 0,00027X**

[5] $\hat{Y}$=4,99***-0,02965X*

Significativo *** (P<0, 0001); ** (P<0,01); * (P<0,05); VU: volume urinário; CR: creatinina; DP: derivados de purinas; U: ureia; NU: nitrogênio ureico; NT: nitrogênio total; TFG: taxa de filtração glomerular

A redução na TFG pode provocar redução na carga filtrada de metabólitos sanguíneos, incluindo os derivados de purinas, nitrogênio ureico e compostos nitrogenados totais, e até mesmo a creatinina, diminuindo, assim, sua excreção renal. Neste estudo, as concentrações plasmáticas de creatinina apresentaram efeito linear positivo, devido à utilização da farinha de pupunha nas dietas, comportamento que pode ser explicado pela TFG, que decresceu com a inclusão da farinha de pupunha (Tabela6), uma vez que a creatinina não sofre secreção e reabsorção tubular.

O aumento observado nas concentrações plasmáticas de creatinina (mmol/L) é resultado da redução na taxa de depuração da creatinina endógena, confirmando sua utilização para estimar a TFG (BROWN et al.,1990), consistente ao observado neste estudo. Este fato também foi evidenciado por Pereira et al. (2013a) em estudos avaliando o metabolismo e excreção urinária de compostos nitrogenados em cordeiros alimentados com níveis de substituição do milho pelo farelo de algaroba em dietas peletizadas.

A razão DP: creatinina é relacionada com a ingestão de alimentos e com o fluxo intestinal de purinas microbianas, podendo, dessa forma, ser utilizada como indicador de fluxo intestinal de nitrogênio microbiano (VALADARES FILHO et al., 2007). Para tal, essas estimativas devem ser construídas a partir do *índice* DPC, por levar em consideração o peso metabólico animal (CHEN et al.,2004).

O *índice* DPC na urina total de cordeiros alimentados com níveis de farinha de pupunha não variou (P>0,05) entre as dietas apresentando comportamento semelhante à excreção de DP (Tabela 6), assim, pode-se pressupor que o *índice* DPC obtido por meio da coleta de urina total também não foi eficiente para detectar diferenças entre as dietas, devido às alterações da TFG.

Mesmo ao se realizar a coleta de urina total, que é adotada como método mais acurado em vários trabalhos científicos, cujo objetivo é determinar a excreção urinária de metabólitos, o efeito da TFG não pode ser corrigido e, assim, a determinação da excreção urinária de DP para se estimar a absorção de purinas absorvidas microbianas no intestino não será um método adequado, quando se objetiva avaliar diferenças entre dietas, ao afetarem o metabolismo de compostos nitrogenados.

A partir da interpretação dos resultados obtidos em estudos de Pereira et al. (2013a) e Pereira et al. (2013b), e consistentes a esta pesquisa, considera-se que quando se avalia método de coleta de urina de animais alimentados com uma única fonte

alimentar e modifica-se apenas níveis da inclusão de um determinado alimento, a obtenção de amostra de urina total torna-se inadequada, quando as dietas promoverem variações na TFG.

Para o volume urinário, diferenças (P<0,05) em função das dietas experimentais foram verificadas nas amostras de urina *spot* coletadas em intervalos de 4 horas após a primeira alimentação do dia, quando se comparam com as excreções obtidas a partir da coleta de urina total (Tabela 7). Esse resultado é consistente àquele obtido com coleta de urina total (Tabela 6). Entretanto, para os horários de coleta avaliados (04h00, 08h00, 12h00, 16h00, 20h00 e 24h00) não foram constatadas diferenças (P>0,05) entre si, provavelmente, a utilização de valor médio de excreção diária de creatinina implica em perda de acurácia do método de coleta de urina *spot*, não sendo possível, nesta pesquisa, sugerir a utilização da amostra de urina *spot* obtida em qualquer horário para estimar o volume urinário.

Ao comparar a excreção de derivados de purina urinários (mmol/kg de peso corporal e peso metabólico), respectivamente, obtida mediante coleta de urina total, com as estimadas a partir das amostras de urina *spot*, verificou-se diferenças entre os contrastes das médias obtidas pela amostragem realizada às 4h00 após a alimentação matinal (P=0, 0270 e P= 0, 0320, respectivamente) com a coleta de urina total (Tabela 7). Assim, analisando esses resultados e os apresentados na Tabela 8, pode-se evidenciar que a coleta de urina *spot* no tempo de 4h00 apresentou resposta mais precisa para detecção de diferenças entre dietas experimentais.

É importante salientar que as variáveis-respostas apresentadas na Tabela 8 foram estimadas com a utilização de amostras coletadas por meio do método de urina *spot*, considerando um valor médio de todos os tratamentos para a excreção diária de creatinina (mg/PC), apesar de terem sofrido efeito quadrático em função dos níveis de farinha de pupunha (Tabela 6).

Ressalta-se também que neste horário de amostragem de urina *spot* já tenha alcançado o platô de concentração plasmática de DP e, provavelmente, sejam menos afetadas pela TFG e, consequentemente, suas excreções na urina. Assim, o efeito de dieta se torna o fator preponderante em alterar essa variável.

Tabela 7. Médias de quadrados mínimos e valores de probabilidade dos efeitos de tratamento, tempo e interação tratamento x tempo da excreção de metabólitos urinários utilizando a coleta total e urina *spot* obtida a cada 4 horas, de cordeiros alimentados com dietas contendo farinha de pupunha em substituição ao milho

Item	Tratamento (T)					P	Tempo de Coleta (C)							EPM	P	T x C
	1	2	3	4	5		4	8	12	16	20	24	Total			
VU	1,15	0,83	0,68	1,03	1,05	0, 004	1,10	1,07	0,88	1,11	0,87	0,72	0,87	0, 05	0, 096	0, 933
DP[a]	33,37	27,77	22,38	26,50	28,62	0, 001	32,04	29,10	25,60	31,77	26,03	27,13	22,44	1,12	0, 322	0, 906
DP[b]	1,37	1,16	0,95	1,07	1,26	0, 003	1,41	1,19	1,08	1,32	1,08	1,13	0,93	0,04	0, 208	0, 949
DP[c]	3,03	2,55	2,09	2,38	2,74	0, 003	3,07	2,64	2,37	2,91	2,39	2,50	2.05	0,09	0, 233	0, 937
U[a]	194,0	219,5	198,2	209,5	191,4	0, 598	243,0	227,3	202,0	208,4	182,7	187,1	167,2	6,57	0, 025	0, 989
U[b]	8,52	9,19	8,41	8,77	8,45	0, 881	10,79	9,70	8,58	8,82	7,75	7,94	7,11	0,28	0, 007	0, 970
U[c]	18,48	20,21	18,50	19,31	18,39	0, 836	23,41	21,25	18,83	19,36	17,01	17,42	15,58	0,59	0, 009	0, 977
NU[a]	90,58	102,4	92,48	97,77	89,34	0, 599	113,40	106,07	94,26	97,25	85,28	87,34	78,03	3,07	0, 025	0, 989
NU[b]	3,98	4,29	3,93	4,09	3,94	0, 881	5,03	4,53	4,01	4,12	3,62	3,71	3,32	0,13	0, 007	0, 970
NU[c]	8,62	9,43	8,64	9,01	8,58	0, 836	10,93	9,92	8,79	9,04	7,94	8,13	7,27	0,28	0, 009	0, 977
NT[d]	1,88	2,10	1,65	2,02	1,78	0, 275	1,46	1,40	1,30	1,33	1,35	1,52	4,85	0,12	0, 0001	0, 502
NT[e]	0,08	0,09	0,07	0,08	0,08	0, 539	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,21	0,01	0, 0001	0, 530
NT[f]	0,18	0,19	0,16	0,19	0,17	0, 462	0,14	0,13	0,12	0,12	0,13	0,14	0,45	0,01	0, 0001	0, 544
DPC	60,18	50,81	41,70	58,39	52,98	0, 003	58,73	52,81	54,99	63,10	47,62	49,31	43,13	2,40	0, 284	0, 971

Análises de contrastes

	Total x 4	Total x 8	Total x 12	Total x 16	Total x 20	Total x 24
VU	0, 1427	0, 2064	0, 9227	0, 1196	0, 9796	0, 3274
DP[a]	0, 1228	0, 0800	0, 4045	0, 1470	0, 3435	0, 2159
DP[b]	0, 0270	0, 0831	0, 3196	0, 1414	0, 3121	0, 1767
DP[c]	0, 0320	0, 0808	0, 3386	0, 1811	0, 3160	0, 1857

U[a]	0, 0016	0, 0118	0, 1417	0, 0824	0, 5102	0, 3976
U[b]	0, 0003	0, 0107	0, 1422	0, 0895	0, 5204	0, 3498
U[c]	0, 0005	0, 0103	0, 1386	0, 0849	0, 5143	0, 4003
NU[a]	0, 0016	0, 0118	0, 1418	0, 0824	0, 5103	0, 3977
NU[b]	0, 0003	0, 0107	0, 1423	0, 0892	0, 5214	0, 4058
NU[c]	0, 0005	0, 0104	0, 1384	0, 0849	0, 5150	0, 4012
NT[d]	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001
NT[e]	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001
NT[f]	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001
DPC	0, 0674	0, 2544	0, 1632	0, 1997	0, 5962	0, 4659

VU: volume urinário; DP: derivados de purinas; U: ureia; NU: nitrogênio ureico; NT: nitrogênio total; DPC: [derivados de purina /creatinina - mmol/L] x PC ^{0,75};[a]: mmol/dia;[b]: mmol/kg PC;[c]: mmol/kg PC ^{0,75};[d]: g/dia;[e]: g/kg PC;[f]: g/kg PC ^{0,75}

Efeito semelhante às essas respostas foi verificado por Pereira et al. (2013a), em pesquisa com cordeiros, que compararam os métodos de coleta de urina (total e *spot*) e sugeriram a amostragem de quatro horas após a alimentação matinal para a estimação das excreções de derivados de purinas em cordeiros.

Diante dos resultados obtidos nesta pesquisa, sugere-se que, apesar da amostra de urina *spot*, obtida 4h00 após a alimentação matinal, seja o tempo de amostragem mais indicado para estimação da síntese ruminal de proteína microbiana, uma vez que permite a obtenção de diferenças relativas entre dietas, há necessidade de utilização de coleta de urina total para a determinação da excreção diária de creatinina dos animais em cada dieta experimental, uma vez que a mesma foi influenciada pelos níveis de farinha de pupunha.

Foi detectada diferença ($P<0,05$) entre as dietas para o *índice* DPC ao comparar todos os seis tempos pontuais de urina, com aquelas obtidas com a coleta total (Tabela 7). Entretanto, quando analisadas as amostragens de urina *spot* considerando todos horários de coleta entre si (Tabela 8), não detectou efeito de dieta para o *índice* DPC, evidenciando-se resposta menos acurada e precisa para a detecção de diferenças entre as dietas experimentais. Assim, pode-se inferir que, provavelmente, a ausência de efeito por meio do método de coleta de urina *spot* tenha ocorrido devido à utilização da média de excreção diária de creatinina, apesar de ter sofrido efeito quadrático em função dos níveis de farinha de pupunha.

Chen et al. (1995) descreveram que a relação entre as concentrações de DP:creatinina em amostras de urina *spot* não apresentou diferença significativa, quando obtidas em coletas a intervalos de uma hora, sendo linearmente correlacionada com a excreção diária de DP, semelhante aos resultados aqui apresentados.

A ausência de efeito da hora de coleta sobre o *índice* DPC indica que se pode usar a amostra de urina *spot* para calcular a excreção de DP em qualquer horário do dia. Além disso, evidências nas estimativas de volumes de urina obtidas por meio de coletas pontuais não influenciam a excreção de DP e, provavelmente, a síntese de proteína microbiana. Contudo, pode-se inferir que a utilização de valor médio de excreção diária de creatinina por peso corporal para estimação de excreção urinária, quando há variação na TFG, implica em perda de acurácia do método de coleta de urina *spot*.

A excreção de ureia, nitrogênio ureico e nitrogênio total na urina de cordeiros não apresentaram diferenças significativas entre as dietas experimentais à medida que

aumentaram os níveis de farinha de pupunha (Tabela 6). A excreção de compostos nitrogenados totais seguiu o mesmo comportamento do nitrogênio ureico, por se apresentar a maior fração nitrogenada da urina.

Tabela 8. Valores de probabilidade dos efeitos de tratamento, tempo e interação tratamento x tempo da excreção de metabólitos urinários utilizando a coleta de urina *spot* obtida a cada 4 horas, de cordeiros alimentados com dietas contendo farinha de pupunha em substituição ao milho

Item	Urina *Spot* (4 em 4 horas)		
	Tratamento	Tempo	Tratamento x Tempo
		Volume Urinário	
L/dia	0, 4014	0, 0301	0, 6254
		Derivados de Purina	
mmol/dia	0, 4159	0, 2775	0, 5880
mmol/PC	0, 0255[1]	0, 1697	0, 7196
mmol/PC ^{0,75}	0, 0398[2]	0, 1925	0, 6888
		Ureia	
mmol/dia	0, 7630	0, 1027	0, 9577
mmol/PC	0, 9705	0, 0439[3]	0, 9310
mmol/PC ^{0,75}	0, 9325	0, 0528	0, 9406
		N-Ureico	
mmol/dia	0, 9704	0, 0544	0, 9317
mmol/PC	0, 9702	0, 0462[4]	0, 9313
mmol/PC ^{0,75}	0, 9327	0, 0478[5]	0, 9405
		Nitrogênio Total	
g/dia	0, 4630	0, 7862	0, 8868
g/PC	0, 7330	0, 7244	0, 8687
g/PC ^{0,75}	0, 6743	0, 7807	0, 9163
		Índice DPC	
	0, 5628	0, 3820	0, 7736

Equação de regressão

[1] $\hat{Y}$=1,21* -0,00963X** + 0,000095X^2**
[2] $\hat{Y}$ = 2,64* - 0,0200 X** + 0,00192X^2**
[3] $\hat{Y}$ = 9,28* - 0,00302X**
[4] $\hat{Y}$ = 5,09-0,06608X**
[5] $\hat{Y}$ =11,08-0,1404X**

Significativo * (P<0, 0001); ** (P<0,01); *** (P<0,05); Urina *spot:* 4h00, 8h00, 12h00, 16h00, 20h00 e 24h00 após primeira alimentação matinal

A excreção de ureia está diretamente relacionada à ingestão de compostos nitrogenados e o metabolismo proteico. A ausência de efeito de tratamento para essas variáveis eram esperadas, visto que as dietas experimentais foram formuladas para serem isonitrogenadas, e os animais neste estudo não apresentaram diferença no

consumo de proteína bruta (Tabela 4). Assim, pode-se observar que, ao se comparar métodos de coleta de urina, não houve diferença (P>0,05) para as dietas avaliadas, portanto, ambos os métodos são indicados para realização de coletas de amostra de urina para estimar a excreção urinária de ureia (Tabela 7).

Entretanto, vale ressaltar que essa recomendação deve ser adotada com cautela pelo fato de haver oscilação circadiana das excreções de ureia. Isso pode ser evidenciado pela variação temporal na urina, mediante os diferentes períodos pós-prandiais avaliados (Tabelas 7 e 8).

Diferenças significativas foram verificadas para as excreções de ureia e N-ureico, quando se comparou os métodos de coleta de urina total e *spot* por amostragem pontual, realizadas nos tempos de 4h00 e 8h00 após a alimentação da manhã (Tabela 7), entretanto, não foram observadas diferenças (P>0,05) entre as dietas experimentais, ao se considerar as médias dos outros tempos.

Para a excreção de nitrogênio total em cordeiros, quando comparada na amostra proveniente de coleta de urina total com a excreção nas amostras de urina *spot*, entre os horários de coleta avaliados (04h00, 08h00, 12h00, 16h00, 20h00 e 24h00), foi diferente (P<0,05), entretanto, não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) entre as dietas experimentais, ao se considerar todos os tempos (Tabela 7). Assim, pode-se inferir que a amostra de urina *spot*, obtida em qualquer horário com intervalos de 4h00, estima adequadamente a excreção de nitrogênio total.

O resultado encontrado nesta pesquisa difere do relatado por Pereira (2012), ao comparar a excreção de nitrogênio total obtido mediante coleta total de urina, com o obtido a partir da coleta de urina *spot*, a cada quatro horas após a alimentação da manhã, verificando-se somente diferença significativa da amostragem realizada às 4h00, 12h00 e 20h00, após a alimentação matinal com a coleta total.

CONCLUSÕES

As excreções diárias de creatinina e de compostos nitrogenados não são influenciadas pela duração do período de coletas de urina total, recomendando-se que essas coletas sejam feitas durante 24 horas.

O método de coleta pontual de amostras de urina *spot*, 4h00 após a primeira alimentação matinal, é mais precisa que a coleta de urina total em 24 horas, para obtenção de estimativas da excreção total de derivados de purinas e, assim, da síntese de proteína microbiana em cordeiros, quando a taxa de filtração glomerular é alterada pela dieta.

A coleta de urina *spot* para a estimação da excreção de ureia somente difere da coleta total quatro e oito horas após a alimentação da manhã. Para os compostos nitrogenados totais, pode-se obter amostra em qualquer intervalo a cada quatro horas pós-prandial.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A excreção diária de creatinina por peso corporal de cordeiros varia em função dos níveis de farinha de pupunha nas dietas, devido à alteração da taxa de filtração glomerular, sendo que o nível de consumo de matéria seca é o principal fator causador dessa alteração.

As concentrações plasmáticas de derivados de purinas mantiveram-se constantes no plasma, devido à redução da depuração renal desses metabólitos em função da substituição do milho pela farinha de pupunha nas dietas.

A utilização do *índice* DPC não é recomendada para se estimar a excreção diária de DP, quando há variação da taxa de filtração glomerular.

A estimação do volume urinário com o valor médio de excreção diária de creatinina por peso corporal como indicador não é acurada para se estimar a excreção de derivados de purina em amostras de urina *spot* 4h00 após a alimentação da manhã, quando a taxa de filtração glomerular varia em função da dieta, necessitando de mais avaliações.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**.16.ed.Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.

BARBOSA, A.M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.35, n.3, p.870-877, 2006.

BROWN, S.A., GROVES, C., BARSANTI, J.A. Determination of excretion of inulin, creatinine, sodium sulfanilate and phenolsulfonphthalein to asses renal function in goats. **American Journal of Veterinary Research,** v. 51(4):p. 581-586, 1990.

CETINKAYA, N., YAMAN, S., BABER, N.H.O. The use of purine derivatives/creatinine ratio in spot urine samples as an index of microbial protein supply in Yerli Kara crossbred cattle. **Livestock Science**.v.100, p.91–98, 2006.

CHEN, X. B., GRUBIC, G., ORSKOV, E.R., OSUJI, P. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. **Animal Production**.v.55, p.185–191, 1992.

CHEN, X. B., MEJIA, A. T., KYLE, D. J., ORSKOV, E. R. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal Agriculture Science**.v.125, p.137–143, 1995.

CHEN, X.B., JAYASURIYA, M.C.N., MAKKAR, H.P.S. Measurement and application of purine derivatives: creatinine ratio in *spot* urine samples of ruminants. In: Makkar, H.P.S., Chen, X.B. (Eds.), Estimation of Microbial Protein Supply in Ruminants Using Urinary Purine Derivatives. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, p.167–179, 2004.

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. Bucksburnd: Rowett Research Institute; **International Feed Resources Unit**, 1992, 21p. (Occasional publication).

CHIZZOTTI, M.L; VALADARES FILHO, S.C; VALADARES, R.F.D. et al. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science** v.113, p. 218–225, 2008.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** - INCT - Ciência Animal. Visconde do Rio Branco: Suprema, 214p, 2012.

GEORGE, S.K., DIPU, M.T., MEHRA, U.R., VERMA, A.K., SINGH, P. Influence of level of feed intake on concentration of purine derivatives in urinary spot samples and

microbial nitrogen supply in crossbred bulls. **Asian Australasian Journal of Animal Science**.v9, p.1291-1297, 2006.

KOZLOSKI, G.V., FIORENTINI, G., HÄRTER, C.J., SANCHEZ, L.M.B. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. **Ciência Rural**, v.35, p. 98-102, 2005.

LEAL, T.L., VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.36, n.4, p.905-911, 2007.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fracionation of ruminant feed. **Animal Feed Science Technological**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

MAKKAR, H.P.S. Development, standardization and validation of nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity. In: Makkar, H.P.S., Chen, X.B. (Eds.), Estimation of Microbial Protein Supply in Ruminants Using Urinary Purine Derivatives. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, pp. 1–13, 2004.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL–NRC. **Nutrient Requirements of Small Ruminants**: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academies Press, 2007.

PEREIRA, T. C. J.; PEREIRA, M. L. A.; SANTOS, A. B. et al. Estimação da síntese de proteína microbiana em cabras lactantes utilizando diferentes metodologias. In: V CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 2008, Aracajú - SERGIPE. **Anais...** Aracajú: Simpósio Nacional de Produção de Ruminantes, 2008. (CD-ROM).

PEREIRA, M.L, PEREIRA, T.C.J, SILVA, H.G.O, CRUZ, J.F, ALMEIDA, P.J. P, SANTOS, A.B, SANTOS, E.J, PEIXOTO, C.A.M. Substitution of corn by mesquite pod meal in pellet diets for lambs: nitrogen compounds metabolism. Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production.**4th International symposium on energy and protein metabolism and nutrition.** Sacramento, Califórnia, USA. 2013 (a).

PEREIRA, M.L, SANTOS, A.B, DEL REI, A.J, CRUZ, J.F, ALMEIDA, P.J.P, PEREIRA, T.C.J, SANTOS, E.J, PEIXOTO, C.A.M. Excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in lactating goats fed other protein sources. Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production.**4th International symposium on energy and protein metabolism and nutrition**. Sacramento, Califórnia, USA. 2013(b).

PEREIRA, T.C.J. **Substituição do milho pelo farelo de algaroba em dietas peletizadas para cordeiros.** 72p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2012.

RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F. et al. Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por meio dos derivados de purinas utilizando duas metodologias de coleta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.546-555, 2008.

SANTOS, A. B. **Farelo da vagem de algaroba associado a fontes protéicas em dietas de cabras lactantes.** 2010, 91p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2011.

SAS INSTITUTE. Statistical Analysis System.**User'sguide**.Cary: SAS Institute, 2006.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

VALADARES FILHO, S.C., PINA, D.S., AZEVÊDO, J.A.G., VALADARES, R.F.D. Estimativa da produção de proteína microbiana utilizando a excreção de derivados de purinas na urina. In: RENNÓ, F.P.; SILVA, L.F.P. (Eds.). Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes, 2007. Pirassununga. **Anais**: Pirassununga, pp. 90-120, 2007.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.8, p.2686- 2696, 1999.

VERBIC, J. Factors affecting microbial protein synthesis in the rumen with emphasis on diets containing forages.**Viehwirtschaftliche Fachtagung**, p. 24-25. April 2002.

V - CAPÍTULO 2

EXCREÇÕES DIÁRIAS DE CREATININA E DE COMPOSTOS NITROGENADOS POR CORDEIROS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES FONTES ENERGÉTICAS

RESUMO: Objetivou-se avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina, derivados de purinas, ureia e compostos nitrogenados totais na urina utilizando coletas durante quatro dias consecutivos, bem como comparar a excreção de compostos nitrogenados na urina por meio de dois modelos, amostras de urina *spot* em intervalos de 4 horas, com aquela obtida via coleta total em cordeiros alimentados com diferentes fontes energéticas (milho, sorgo, farelo de trigo, farelo de algaroba e farinha de pupunha). Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, com peso corporal de 22,85 ± 1,0 kg. Os animais foram distribuídos em um quadrado Latino 5 x 5, constituídos de cinco períodos e cinco tratamentos, recebendo dietas compostas por 60% de feno de capim-Tifton 85 e 40% de concentrado. O experimento teve duração de 95 dias, dividido em cinco períodos de 19 dias de duração cada. As coletas de urina foram realizadas utilizando-se gaiolas metabólicas, sendo determinado o volume urinário diário. O volume urinário e a excreção diária de creatinina não foram influenciados pela duração do tempo de coleta, e também não se observou efeito significativo das fontes energéticas. A taxa de filtração glomerular (TFG) não sofreu alterações em função das diferentes fontes energéticas das dietas experimentais. Foi observado efeito significativo das dietas sobre a excreção de derivados de purinas e *índice* DPC, quando se utilizou urina total, no entanto, para o método de amostragem de urina *spot,* não foi detectado efeito das dietas (P>0,05). Para excreção de ureia, foi observado efeito significativo das dietas em ambos os métodos e, para os compostos nitrogenados totais, a coleta de urina total em 24 horas foi eficiente em detectar diferenças entre dietas. Dessa forma, concluiu-se que a obtenção da excreção de derivados de purinas por meio da coleta de urina, com duração de 24 horas, é mais acurada.

Palavras-chave: coleta de urina, derivados de purina, taxa de filtração glomerular, ureia.

V–CHAPTER II

DAILY EXCRETIONS OF CREATININE AND NITROGEN COMPOUNDS IN LAMBS FED DIETS CONTAINING DIFFERENT SOURCES OF ENERGY

ABSTRACT: Work aimed to evaluate variations in the daily excretions of creatinine and nitrogen compounds in the urine were evaluated through collections performed for four consecutive days, and two collection methodologies were compared: spot urine collection in 4-h intervals, and total urine collection, in lambs fed diets containing different sources of energy (corn, sorghum, wheat bran, mesquite pod meal, and peach palm meal). Five Santa Inês × undefined-breed crossbred lambs at an average age of four months and weighing 22.85 ± 1.0 kg at the beginning of the experiment were used. The animals were distributed in a 5 × 5 Latin square (LS) design with five treatments and five replicates, receiving diets composed of 60% Tifton 85 hay and 40% concentrate. The experimental period was 95 days, consisting of five 19-day periods. Diets were calculated to meet the animals' energy requirements for maintenance as recommended by the NRC (2007) for growing sheep. The urinary volume and the daily excretion of creatinine were not influenced by the collection days, and no significant effect (P>0.05) of the sources of energy was observed, either. The glomerular filtration rate was not altered by the different sources of energy of the experimental diets. A significant effect of the sources was observed on the excretion of purine derivatives and CDP index when total urine was adopted; however, no effect of diets was detected through the spot urine sampling method. Regarding the excretion of urea, a significant effect of the diets was observed in both methodologies, and for the total nitrogen compounds, total urine in 24 h was efficient in detecting differences between diets. In conclusion, obtaining the excretion of purine derivatives through a 24-h urine collection is a more accurate method.

Key words: glomerular filtration rate, purine derivatives, urine collection, urea.

INTRODUÇÃO

A proteína microbiana sintetizada no rúmen fornece a maior fração de aminoácidos aos ruminantes. Devido à importância da proteína microbiana, a quantificação do seu fluxo, sob diferentes condições dietéticas, é fundamental para o atendimento das exigências em aminoácidos absorvidos.

Com este propósito, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos não invasivos na experimentação animal que permitam medir o fluxo intestinal de proteína microbiana de forma rotineira nos rebanhos. Assim, estudos sobre a utilização da excreção de derivados de purinas na urina, para a quantificação da proteína microbiana, tornaram-se uma alternativa à utilização de animais fistulados, entretanto, permanecem desafios a serem elucidados.

O uso da excreção de derivados de purina (DP) na urina tem o potencial de fornecer uma abordagem não invasiva, mas exigem coleta de urina total. O tempo de coleta necessário para obtenção de amostras representativas da condição do animal tem variado de 24 horas ao longo de nove dias, o que torna a técnica laboriosa como rotina experimental, desconfortável para os animais, e pode interferir com outras variáveis (PEREIRA et al., 2013a). Dessa forma, a coleta de urina total constitui uma tarefa árdua, sendo de grande interesse o desenvolvimento de métodos que permitam o menor tempo possível de coleta, ou até mesmo que tornem desnecessária a coleta de urina total.

Além da utilização do método não invasivo para medir a proteína microbiana utilizando coleta de urina total, outro grande avanço é a possibilidade de usar a concentração de derivados de purina em uma amostra pontual de urina, denominada amostra de urina *spot*, utilizando a excreção de creatinina na urina como indicador da produção urinária diária. Entretanto, existem dúvidas sobre possíveis oscilações na excreção de derivados de purina ao longo do dia, após a ingestão de alimentos, o que inviabilizaria a obtenção de amostra de urina *spot* a qualquer hora do dia.

O modelo mecanístico geral proposto por Chen & Ørskov (2014), que descreve as relações quantitativas entre absorção intestinal de purinas microbianas e a excreção de DP na urina, apresenta os fatores que afetam a excreção de DP, sendo que alguns ainda não estão completamente elucidados. Dentre esses fatores, os autores enfatizaram os mecanismos que contribuem à diversidade observada entre e dentro de espécies de animais, como o metabolismo tecidual e cinético dos DP no sangue. No entanto, ao

considerar ainda o modelo, observa-se a necessidade de mais estudos para avaliar o efeito da fisiologia renal sobre a excreção de DP, com foco na identificação de fatores que afetam a excreção renal de DP plasmático. Então, o efeito da TFG e da secreção e reabsorção tubular deverá ser pesquisado.

Chen & Ørskov (2014) afirmaram ainda que, no mesmo indivíduo, a TFG pode variar de acordo com o consumo e a TFG não afeta a excreção de DP total na urina, porque, quando a TFG aumenta, a concentração plasmática decresce de acordo com um volume fixo de plasma. Entretanto, esses autores não consideraram o fato de que entre indivíduos de um mesmo grupo genético pode haver variação na excreção de DP em função da alteração na TFG proporcionada pelo tipo de dieta, sem que necessariamente ocorra variação do influxo de DP no sangue, proveniente da absorção intestinal de bases purinas microbianas (PEREIRA et al., 2013a). Isso poderia resultar em estimativas pouco acuradas da síntese de proteína microbiana pelo método da excreção de DP na urina.

Nesse contexto, o presente trabalho foi realizado objetivando-se avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina e compostos nitrogenados na urina, utilizando coletas durante quatro dias consecutivos, bem como comparar a excreção de metabólitos urinários através de coleta de urina *spot*, em intervalos de 4 horas, com as obtidas a partir de coleta de urina totalem cordeiros alimentados com diferentes fontes energéticas na dieta.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Ovinocultura do Departamento de Tecnologia Rural e Animal- DTRA, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* Juvino Oliveira, Itapetinga-BA. Localizada a 15º 09’ 07” de latitude sul, 40º 15’ 32” de longitude oeste de Greenwich e altitude média de 268 m. A temperatura e a precipitação pluviométrica média anual são, respectivamente, 27ºC e 800mm.

Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, machos não castrados, com idade média de quatro meses e peso corporal ao início do experimento de 22,85 ±1,0kg. Os animais foram identificados com brincos numerados, vermifugados e confinados em gaiolas metabólicas de 1,0 x 0,80 m (0,80 m²), com acesso a comedouros e bebedouros individuais, distribuídos em um delineamento em quadrado Latino 5 x 5, com cinco tratamentos e cinco repetições. O experimento teve duração de 95 dias, sendo compostos de cinco períodos experimentais de 19 dias cada (quatorze de adaptação às dietas e cinco para coleta de amostras).

As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas (16,2% PB) e de modo a permitir a taxa de ganho de peso de 200 g/dia, conforme recomendação do NRC (2007), para cordeiros. Os tratamentos testados constituíram de diferentes fontes energéticas no concentrado: milho, farelo de trigo, sorgo, farelo de algaroba e farinha de pupunha, sendo compostas de 60% feno de capim-Tifton85 e 40% concentrado. Na Tabela 1 constam a proporção dos ingredientes dos concentrados e, nas Tabelas 2 e 3, a composição do feno, dos concentrados e das dietas experimentais, respectivamente.

O farelo de algaroba foi proveniente da empresa RIOCON® (Fazendas Reunidas Rio de Contas Ltda), obtido após a colheita, realizada por catação, seguido da trituração. A trituração foi feita em maquinário apropriado, tipo betoneira, e antecedeu a secagem do material. Utilizou-se secador da marca D’Andrea®, cujo material permaneceu por aproximadamente 10 horas em temperatura média de 60ºC até a obtenção de 7 a 10% de umidade. Após essa fase, ocorreu a moagem com moinho Koopers® para a obtenção do farelo.

A farinha de pupunha foi produzida em casa de farinha do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano– IF BAIANO, *campus* Uruçuca - BA. A polpa do fruto já descaroçado foi fornecida pela Indústria de Alimentos no Mercado de Palmitos – INACERES, localizada em Uruçuca - BA. A polpa obtida foi desidratada em barcaças de secagem de cacau, por três dias consecutivos, com revolvimento constante,

até reduzir a umidade pela metade, em seguida, desintegrada em um triturador de mandioca e, posteriormente, a massa triturada foi conduzida para o torrador de farinha mecanizado. Essa operação de torra foi realizada entre 30 e 40 minutos, com revolvimento mecânico da massa, por auxílio de rodos de madeira, até a secagem final da farinha, aproximadamente 13% de umidade. Com a perda da umidade promovida pela torração, pode-se verificar o clareamento da massa para farinha.

Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes da dieta (% na MS)

Ingredientes	Fontes energéticas				
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha
Feno de Tifton 85	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0
Farelo de Soja	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho	27,0	--	--	--	--
Farelo de trigo	--	29,0	--	--	--
Sorgo	--	--	28,4	--	--
Farelo de algaroba	--	--	--	27,0	--
Farinha de pupunha	--	--	--	--	27,0
Suplemento mineral[1]	1,5	1,0	0,9	1,4	1,4
Ureia	1,5	0,0	0,7	1,6	1,6
Total	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**

[1]Composição da mistura mineral: Cálcio:168,00 g, Fósforo: 85,00 mg, Cobre: 600,00 mg, Ferro: 1.850,00 mg, Cobalto: 45,00 mg, Iodo: 80,00 mg, Manganês:1.350,00 mg

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, sempre às 07h00min e 16h00min, *ad libitum*, de modo a permitir, no máximo, 10% de sobras. A água sempre foi trocada pela manhã e reabastecida à tarde. Diariamente, foram registradas as quantidades dos alimentos fornecidos e das sobras de cada animal, para a obtenção do consumo, e, durante cada período experimental, foram realizadas amostragens dos alimentos fornecidos e sobras. O consumo foi calculado pela diferença entre o fornecido e as sobras. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para análises posteriores.

As análises químicas e bromatológicas dos alimentos, sobras e fezes foram realizadas no laboratório de Forragicultura e Pastagem da UESB. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para análises posteriores. Nas amostras dos volumosos, concentrados e sobras de cada animal, foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), de acordo a AOAC (1995).

Para as análises da fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa-amilase termoestável, sem o uso de sulfito de sódio e corrigida para cinza residual (MERTENS, 2002). A lignina foi obtida a partir do método descrito em Detmann et al. (2012), com o resíduo da FDA analisada com ácido sulfúrico a 72%.

Tabela 2. Composição químico-bromatológica do feno de capim Tifton 85 e dos concentrados

Item	Feno de Tifton 85	Concentrados				
		Milho	Farelo de trigo	Sorgo	Farelo de algaroba	Farinha de pupunha
MS	92,1	91,8	92,0	91,0	90,6	92,6
MO[1]	92,0	94,4	93,8	95,5	92,6	94,1
Cinzas[1]	8,0	5,6	6,2	4,5	7,4	5,9
PB[1]	5,8	21,5	20,7	22,1	24,7	22,8
PIDN[2]	38,0	32,0	33,0	34,7	12,4	21,2
PIDA[2]	22,9	11,0	14,2	12,2	6,0	7,0
EE[1]	2,3	2,9	2,5	2,6	2,0	5,4
CT[1]	83,9	68,7	69,4	68,1	63,5	63,9
CNF[1]	2,4	34,5	20,3	34,6	30,9	46,2
CNFcp[1]	7,7	42,5	27,3	43,0	34,7	50,3
FDN[1]	81,5	34,3	51,1	33,5	32,6	17,7
FDNcp[1]	76,2	26,2	43,9	25,2	28,8	13,5
FDA[1]	47,0	10,2	19,9	13,5	21,3	7,7
Hemicelulose[1]	34,5	24,1	31,2	20,0	11,3	10,0
Celulose[1]	36,7	9,8	15,8	13,3	18,0	7,2
Lignina[1]	10,3	2,1	2,9	1,0	3,2	1,0
NDT[1, 3]	47,7	75,9	70,7	77,3	71,2	85,2

1/ Valores em percentagem da MS. 2/ Valores em percentagem da PB. 3/ Estimado segundo NRC (2001).

Os animais foram pesados no início e no final de cada período experimental. As coletas totais de urina foram realizadas diariamente, do 16° ao 19° dia de cada período, utilizando-se recipiente contendo 100 mL de uma solução de ácido sulfúrico a 20% v/v. Ao término de cada período de 24 horas de coleta, a urina foi pesada, homogeneizada e amostrada, retirando uma alíquota de 10% do volume diário em cada período, para posteriores análises. Estas amostras foram elaboradas com pH abaixo de três para evitar a destruição bacteriana dos metabólitos presentes na urina e, logo após, foram armazenadas em frascos plásticos a -20ºC, as quais foram destinadas à quantificação das concentrações urinárias de creatinina, ureia, nitrogênio total, alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico.

Tabela 3. Composição químico-bromatológicadas dietas experimentais

Item	Dietas (%MS)				
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha
MS	91,9	92,0	91,5	91,2	92,4
MO[1]	93,4	93,0	94,0	92,0	92,6
Cinzas[1]	6,6	7,0	6,0	7,7	6,8
PB[1]	15,2	14,8	15,6	17,1	16,0
PIDN[2]	34,4	35,0	36,0	22,6	27,9
PIDA[2]	17,3	19,2	18,0	14,3	14,9
EE[1]	2,7	2,4	2,5	2,1	4,2
CT[1]	74,8	75,2	74,4	71,7	71,9
CNFcp[1]	28,6	19,5	28,9	26,3	33,2
FDNcp[1]	46,2	56,8	45,6	47,8	38,6
FDA[1]	24,9	30,7	26,9	31,6	23,4
Hemicelulose[1]	28,2	32,5	25,8	20,6	19,8
Celulose[1]	20,6	24,2	22,7	25,5	19,0
Lignina[1]	5,3	5,9	4,7	6,1	4,7
NDT[1, 3]	64,6	61,5	65,4	62,9	70,2
EL (Mcal/kg)[3]	1,5	1,4	1,5	1,4	1,6
ED (Mcal/kg)[3]	2,8	2,7	2,9	2,8	3,1
EM (Mcal/kg)[3]	2,4	2,3	2,5	2,4	2,7

1/ Valores em percentagem da MS. 2/ Valores em percentagem da PB. 3/ Estimado segundo NRC (2001)

Adicionalmente, no segundo dia de coleta de cada período experimental, 16° dia, foram coletadas amostras de urina *spot* com intervalos de quatro em quatro horas ao longo de um período de 24 horas. Neste caso, a amostragem foi feita da urina excretada espontaneamente, que estivesse presente no recipiente de coleta (sem ácido) em cada intervalo de aproximadamente quatro horas, sendo o restante sempre reservado para obtenção do volume total de urina, que foi realizado no mesmo dia. Ao final do período de 24 horas, o volume coletado das amostragens de urina *spot* também foi considerado para obtenção do volume total de urina. Alíquotas de 10 mL das amostras, obtidas com as coletas por amostragem, foram diluídas em 40 mL de H_2SO_4 a 0,018M. Devidamente identificadas, as amostras foram armazenadas a -20ºC, para posteriores análises.

Quatro horas após o fornecimento da ração da manhã, no segundo dia da coleta total, realizou-se a coleta de sangue, via punção da veia jugular, utilizando-se tubo de ensaio (*Vacutainer*^{TM}) de 5 mL com EDTA. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos, obtendo-se o soro sanguíneo, que foram

armazenados a -20°C, para as análises de creatinina, ureia, alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico.

As concentrações de creatinina, ureia e ácido úrico na urina e no plasma sanguíneo foram determinados utilizando-se *kits* comerciais (Bioclin®). A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo 0, 4667, fator correspondente ao teor de N na ureia. Os teores urinários de alantoína, xantina e hipoxantina foram determinados por intermédio de métodos colorimétricos, conforme especificações de Chen & Gomes (1992), sendo o teor de nitrogênio total obtido pelo método de Kjeldhal (SILVA & QUEIROZ, 2002).

O volume urinário estimado a partir das amostras de urina *spot* foi calculado pela excreção média de creatinina, encontrada no experimento, em miligrama por quilo de peso corporal (mg/kg PC), dividida pela concentração na amostra de urina *spot.*

A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína, xantina, hipoxantina e ácido úrico, excretadas na urina, expressas em mmol/dia, e no plasma sanguíneo as concentrações foram expressas em mmol/L.

Foi calculado o índice derivados de purina: creatinina (*índice* DPC). Esse índice foi calculado através das concentrações urinárias (mmol/L) de derivados de purina e creatinina multiplicados pelo peso metabólico, conforme descrito por Chen et al. (2004) e demonstrado a seguir: *Índice* DPC = (DP/Creatinina) x PC ^{0,75}.

O experimento foi conduzido, considerando o grupo de animais, com uma amostra aleatória simples da população. Foi utilizado um delineamento em quadrado Latino 5 x 5 com um arranjo fatorial 5 x 4, composto por cinco tratamentos e tempo de duração de 4 dias de coletas de urina total, com cinco repetições. Para efeito de comparação entre o tempo de duração da coleta total de urina (24, 48, 72 e 96 horas), as combinações foram feitas através de cálculo matemático, usando valores observados no dia: D1= 1º dia; D2= (1º+2º dia) /2; D3= (1º+2º+3º dia) /3; D4= (1º+2º+3º+4º dia) /4; empregou-se análise de variância como ferramenta para isolamento do erro puro, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + P_i + A_j + D_k + T_l + T*D\ (P)_{il} + T*P_{kj} + \varepsilon_{ijkl}$$

Em que: μ = média geral da variável em estudo; P_i = efeito do iésimo período; A_j= efeito do iésimo animal; D_k = efeito do iésimo de duração de coleta; T_l = efeito iésimo de tratamento; ε_{ijkl}= erro residual aleatório.

As comparações entre as excreções urinárias dos compostos nitrogenados das amostras de urina *spot* com a coleta de urina de 24 horas (total) foram realizadas por meio de contrastes ortogonais ($\Sigma_i\lambda_{1i}\lambda_{2i}=0$). Contrastes ortogonais: Dieta: [1 = Milho *vs* (Farelo de trigo + Sorgo + Farelo de algaroba + Farinha de pupunha); 2 = Farelo de Trigo *vs* (Sorgo + Farelo de algaroba + Farinha de pupunha); 3 = Sorgo *vs* (Farelo de algaroba + Farinha de pupunha); 4 = Farelo de algaroba *vs* Farinha de pupunha; Tempo: [1 = 0 horas *vs* (4 + 8 + 12 + 16 + 20+ 24 horas); 2 = 4 horas *vs* (8 + 12 + 16 + 20 + 24 horas); 3 = 8 *vs* (12 + 16 + 20 + 24 horas); 4 = 12 *vs* (16 + 20 + 24 horas); 5 = 16 *vs* (20 + 24 horas); 6 = 20 *vs* 24 horas].

Para avaliação das excreções urinárias de compostos nitrogenados das amostras de urina *spot*, utilizou-se o delineamento em quadrado latino 5 x 5 no esquema de medidas repetidas no tempo, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + P_i + A_j + T_k + \int_l + t_m + (Txt)_{ik} + \varepsilon_{ijklm}$$

Em que: μ = média geral da variável em estudo; P_i = efeito do iésimo de período; A_j = efeito do iésimo de animal; T_k =efeito do iésimo de tratamento; e_{ijk} = erro experimental do tempo; T= efeito fixo do tempo; $(T*D)_{il}$ = interação tempo*tratamento;ε_{ijk}= erro residual aleatório.

As médias obtidas foram agrupadas aplicando-se o PROC MIX do SAS (2006). Para todos os procedimentos estatísticos, adotou-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de matéria seca foi influenciado (P<0,05) pelas dietas experimentais (Tabela 4). Os animais alimentados com as dietas contendo sorgo e farelo de algaroba como fontes energéticas apresentaram consumos superiores à farinha de pupunha, quando expressos em g/dia, g/kg PC e g/kg PC ^{0,75}. De acordo com Lizieire et al. (1990), o consumo de matéria seca por ovinos, nas regiões tropicais, geralmente se situa entre 30,0 e 50,0 g/kg de PC, valores condizentes ao observado neste estudo com exceção para farinha de pupunha.

Os resultados encontrados na literatura têm revelado uma menor aceitabilidade pela farinha de pupunha em relação a outros alimentos, o qual foi observado por Santos (2015) e Ribeiro (2014), relatando consumos decrescentes com o aumento da participação da farinha de pupunha na dieta de cordeiros e caprinos, respectivamente e, reforçado neste trabalho, no qual a menor aceitabilidade pela farinha de pupunha refletiu em reduções no consumo de matéria seca, em todas as formas de expressão, em relação às demais fontes energéticas avaliadas.

Tabela 4. Médias de quadrados mínimos para os consumos de matéria seca, proteína bruta e nutrientes digestíveis totais de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado

Item	Fontes energéticas da dieta					EPM	P
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha		
Consumo (g/dia)							
MS	1010,0^{b}	1140,0^{ab}	1300,0^{a}	1200,0^{a}	420,0^{c}	0, 0850	<0, 0001
PB	160,0^{b}	170,0^{b}	210,0^{ab}	240,0^{a}	70,0^{c}	0, 0167	<0, 0001
NDT	670,0^{b}	690,0^{b}	860,0^{a}	750,0^{ab}	270,0^{c}	0, 0547	<0, 0001
Consumo (g/kg PC)							
MS	37,5^{a}	38,2^{a}	41,7^{a}	39,2^{a}	15,7^{b}	0, 2164	<0, 0001
PB	5,9^{b}	5,7^{b}	6,7^{ab}	7,6^{a}	2,5^{c}	0, 0429	<0, 0001
NDT	24,96^{ab}	23,12^{bc}	27,66^{a}	24,5^{ac}	10,1^{d}	0, 1432	<0, 0001
Consumo (g/kg PC^{0,75})							
MS	85,3^{b}	89,2^{ab}	98,3^{a}	91,7^{ab}	35,8^{c}	0, 5324	<0, 0001
PB	13,4^{b}	13,5^{b}	15,7^{ab}	17,9^{a}	5,8^{c}	0, 1062	<0, 0001
NDT	56,7^{ab}	54,0^{b}	65,0^{a}	57,3^{ab}	23,1^{c}	0, 3484	<0, 0001

Médias seguidas por letras semelhantes na mesma linha não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Os consumos de proteína bruta, nas várias formas de expressão, diferiram (P<0,05) entre as diferentes fontes energéticas na dieta. Os animais que receberam a dieta contendo farelo de algaroba ingeriram maiores quantidades de proteína bruta, em resposta da maior ingestão total de matéria seca e possivelmente em virtude da variação dos teores médios de proteína bruta nas dietas utilizadas (Tabela 3). O consumo médio de proteína bruta para dieta contendo farelo de algaroba como fonte energética foi superior ao recomendado pelo AFRC (1993), de 158 e 164 g PB/dia, respectivamente, para ovinos de 20 e 30 kg de massa corporal.

Igualmente ao consumo de matéria seca, houve maior (P<0,05) ingestão diária de nutrientes digestíveis totais para a dieta contendo sorgo, em todas as formas de expressão. Esse comportamento pode ser explicado pelo efeito no consumo de matéria seca e pelo teor de nutrientes digestíveis totais observados nas dietas experimentais e que não é consistente com o teor energético estimado do sorgo, que foi inferior ao da farinha de pupunha (Tabela 3).

Não houve diferença para o volume urinário e excreção de creatinina (P>0,05) entre os tempos de duração de coleta (Tabela 5). Esses resultados estão de acordo com as observações descritas por Valadares et al. (1997), que não encontraram diferenças nas excreções de creatinina obtidas durante 12, 24, 48 ou 72 horas de coleta, todavia, verificaram menor excreção para a coleta de 96 horas e atribuíram esse resultado a problemas relacionados ao uso de sondas. Assim, recomendaram a utilização da coleta de urina com 24 horas de duração para determinação da excreção urinária diária.

Ausência de diferença significativa em tempos de coleta para excreção de creatinina foi observada por Leal et al. (2007a) e Leal et al. (2007b), ao avaliarem seis dias consecutivos de coleta de urina total em novilhos e novilhas de origem holandesa, respectivamente. Em uma pesquisa com o mesmo tempo de coleta, Barbosa et al. (2006) não encontraram diferença na excreção de creatinina expressa em mg/kg PC, mg/kg PC ^{0,75} e mmol/kg PC ^{0,75}. Também Chizzotti et al. (2008), em pesquisa com tempos menores de coleta, não observaram efeito da duração do período de coleta de urina (6, 9, 12, 15, 18, 21 ou 24 horas) sobre a excreção de creatinina.

A ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem grande aplicação prática, pois pode reduzir o trabalho com tempos longos de coleta, além de permitir a redução nos custos da pesquisa e o desconforto animal, decorrentes da utilização de sondas nas fêmeas e gaiolas metabólicas nos machos.

A média da excreção diária de creatinina na urina, encontrada neste estudo, foi 0,24 mmol/kg de peso corporal (Tabela 5). Este valor foi superior à excreção média de 0,15 mmol/kg de peso corporal, obtida por Pereira (2012), em ensaio com cordeiros mestiços Santa Inês x Dorper. Santos et al. (2009), em pesquisa com cordeiros Santa Inês, obtiveram excreção média de creatinina de 0,13 mmol/kg de peso corporal.

Tabela 5. Médias, erro padrão média (EPM), valor de probabilidade (P) do volume urinário, excreção de creatinina e de compostos nitrogenados em função do tempo de duração de coleta de urina

Item	Tempo de coleta (horas)				EPM	P	Interação Tr *vs* T[1]
	24	48	72	96			
	Volume Urinário						
L/dia	1,67	1,48	1,57	1,61	0, 09	0, 7981	0, 8462
	Creatinina						
mmol/dia	5,92	6,12	5,41	5,32	0, 15	0, 4807	0, 9769
mmol/ kg PC	0,25	0,25	0,23	0,23	0, 01	0, 2809	0, 9228
mmol/kg PC ^{0,75}	0,54	0,56	0,51	0,50	0, 01	0, 3206	0, 9199
	Derivados de Purina						
mmol/dia	11,46	11,54	11,70	11,78	0, 50	0, 8581	0, 9993
mmol/kg PC	0,39	0,40	0,40	0,40	0, 01	0, 8640	0, 9880
mmol/kg PC ^{0,75}	0,91	0,92	0,93	0,93	0, 03	0, 8537	0, 9890
	Ureia						
mmol/dia	399,23	456,86	426,75	425,41	20, 79	0, 4232	0, 8827
mmol/kg PC	13,89	16,08	14,52	14,25	0, 579	0, 2228	0, 7641
mmol/kg PC ^{0,75}	32,09	37,02	33,72	33,21	1, 40	0, 2697	0, 7951
	N-Ureico						
mmol/dia	186,32	213,22	199,16	198,54	9, 71	0, 4231	0, 8826
mmol/kg PC	6,48	7,50	6,78	6,65	0, 27	0, 2233	0, 7648
mmol/kg PC ^{0,75}	14,98	17,28	15,74	15,50	0, 65	0, 2701	0, 7956
	Nitrogênio Total						
g/dia	4,96	4,93	4,88	4,86	0, 15	0, 9913	0, 9840
g/kg PC	0,21	0,21	0,21	0,20	0, 01	0, 9636	0, 9908
g/kg PC ^{0,75}	0,46	0,45	0,46	0,45	0, 01	0, 9711	0, 9884
	Índice DPC						
	22,78	22,88	24,40	25,30	1, 07	0, 5756	0, 9993

Índice DPC: [derivados de purina /creatinina - mmol/L] x PC ^{0,75} (peso metabólico); [1]Tr *vs* T: interação tratamento *vs* tempo de coleta

Valores de referência para ovinos (0,46 - 0,52 mmol/kg PC ^{0,75}) foram descritos por Makkar (2004) para excreção diária de creatinina por unidade de peso metabólico, semelhante ao encontrado neste estudo (0,53 mmol/kg PC ^{0,75}). A excreção média desse metabólito varia em função da raça e espécie, além disso, por ser produto do metabolismo muscular, sua produção e excreção é diretamente relacionado ao peso

corporal (Leal et al., 2007b) e a proporção de massa muscular no corpo vazio (GEORGE et al., 2006).

A comparação dos resultados, verificados neste experimento, com os estudos conduzidos pelos autores supracitados, permite pressupor que estimar o volume urinário por meio de amostras pontuais de urina *spot*, baseando-se em excreção diária de creatinina de outros experimentos, pode resultar em erros nas estimativas da produção urinária dos animais, sugerindo, assim, a necessidade de cautela na adoção de valores arbitrários.

Em relação às excreções diárias de derivados de purina, ureia, nitrogênio ureico, nitrogênio total e *índice* DPC, pode-se observar também que não foram influenciados (P>0,05) pelo tempo de coleta (Tabela 5). Portanto, é possível sugerir que coletas de urina total, com duração de 24 horas, permitem, de modo geral, a obtenção de amostras representativas para a quantificação desses metabolitos na urina de cordeiros.

Considerando que não houve efeito significativo no tempo de coleta, as amostras de coleta de urina total por animal, durante um período de 24 horas, foram submetidas ao efeito das dietas experimentais (Tabela 6). Os volumes de urina produzidos não foram afetados significativamente (P>0,05) pelas fontes energéticas da dieta, com excreção média de 1,58 L/dia. Semelhantemente, a excreção diária de creatinina (mg/kg PC) também não sofreu alteração em função da utilização das diferentes fontes, observando média de 25,78 mg/kg PC de cordeiros Santa Inês x SRD (Tabela 6).

Existem dois fatores que podem provocar oscilações na concentração de creatinina e metabólitos na urina após atingirem o estado estacionário no sangue, um é o volume de urina produzido, que é dependente da ingestão de água, em que no cálculo de excreção, o volume de urina corrige essa alteração nos teores de metabólitos. O outro fator seria a alteração na taxa de filtração glomerular (TFG), que não necessariamente traduz em variação do volume urinário.

A TFG é mínima antes da alimentação e aumenta após o consumo de proteína e absorção de aminoácidos. Quando a dieta fornece o aporte constante de aminoácidos ao longo do dia, espera-se que a TFG atinja um patamar e permaneça constante (SERJSEN et al., 2008). Neste estudo, a TFG (mL/min/$PC^{0,75}$) para as dietas experimentais não diferiu (P>0,05) e esse resultado refletiu a semelhança da excreção de creatinina na urina (Tabela 6).

Dessa forma, a excreção urinária de um determinado metabólito nitrogenado é passível de ser alterada pela TFG, além da taxa de síntese corporal do mesmo, que é o foco dos estudos de nutrição proteica. Diante desse fato, para se estudar os efeitos da dieta sobre excreção renal de qualquer metabólito, torna-se imprescindível determinar a TFG, quando objetiva-se proporcionar resultados mais acurados.

Tabela 6. Médias, (EPM) erro padrão média e (P) valor de probabilidade para o volume urinário, excreção e concentração de creatinina e de compostos nitrogenados de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas

	Fontes energéticas da dieta						
Item	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha	EPM	P
	L/dia						
VU	1,66	1,45	1,57	1,81	1,42	0, 0950	0, 3794
	mg/kg PC						
Creatinina	26,11	27,91	26,30	24,49	24,09	1,3518	0, 8669
	mmol/PC ^{0,75}						
DP	0,93^{a}	1,11^{a}	0,98^{a}	1,16^{a}	0,37^{b}	0, 0829	0, 0009
Ureia	31,99^{b}	32,84^{b}	36,76^{b}	47,22^{a}	21,25^{c}	1, 3953	<0, 0001
N-Ureico	14,93^{b}	15,33^{b}	17,16^{b}	22,04^{a}	9,92^{c}	0, 6511	<0, 0001
	g/PC ^{0,75}						
N-Total	0,50^{a}	0,48^{a}	0,41^{b}	0,50^{a}	0,39^{b}	0, 0126	0, 0030
	mL/min/PC ^{0,75}						
TFG	5,43	4,96	5,47	5,50	3,81	0, 3987	0, 5041
Índice DPC	20,80^{a}	26,03^{a}	28,79^{a}	29,50^{a}	8,72^{b}	2, 4360	0, 0165
	Plasma mmol/L						
Creatinina	0,05	0,06	0,05	0,04	0,07	0, 0027	0, 0576
DP	1,64^{bc}	1,49^{c}	2,70^{a}	2,04^{ab}	1,80^{ab}	0, 1879	0, 0422
N-Ureico	4,71^{b}	5,90^{a}	5,10^{ab}	5,55^{a}	3,49^{b}	0, 3228	0, 0252
	Clearance de DP						
µmol/min	965,4^{bb}	877,5^{b}	1731,9^{a}	1273	812,9^{b}	112,98	0, 0253

Médias seguidas por letras semelhantes na mesma linha não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Como não foi observada variações na TFG, foi possível detectar por meio da coleta de urina total, o efeito (P<0,05) para as excreções de derivados de purina (DP) entre as fontes energéticas testadas. Todas as fontes avaliadas apresentaram (P<0,05) média superior à dieta contendo farinha de pupunha. A menor excreção de DP na dieta contendo farinha de pupunha pode ser atribuída à menor ingestão voluntária de energia, que foi proporcionada por essa dieta, conforme mostrado na Tabela 4, e provavelmente

essas diferenças são refletidas sobre a excreção de derivados de purina no rúmen, devido à alta correlação entre os dois parâmetros.

A partir da interpretação dos resultados obtidos em estudos de Pereira et al. (2013a) e Pereira et al. (2013b) e consistentes a esta pesquisa, considera-se que, quando se avaliam métodos de coleta de urina de animais alimentados com diferentes fontes (energéticas ou proteicas), a obtenção da amostra de urina total, com duração de 24 horas, torna-se adequada para detecção de diferenças entre dietas, quando as mesmas não promoverem variações na TFG.

A excreção urinária de DP foi menor para a dieta contendo farinha de pupunha, sendo que os cordeiros que consumiram essa dieta não apresentaram os menores teores de DP no plasma (Tabela 6). De acordo com Chen & Ørskov (2014), a concentração de DP no plasma seria um índice alternativo para se estimar a síntese microbiana, se não houvesse variação da TFG.

Assim como não houve diferença da TFG entre as dietas e também na depuração renal de DP, exceto para dieta contendo sorgo que proporcionou maior *clearance* de DP, pode-se inferir que o influxo de DP no plasma dos cordeiros alimentados com farinha de pupunha tenha sido causado por maior reabsorção tubular de DP, principalmente devido ao menor consumo de proteína bruta pelos animais alimentados com a dieta contendo farinha de pupunha (Tabela 4).

Salienta-se que a hipoxantina é o único DP que pode ser reutilizado na síntese de nucleotídeos purínicos teciduais (CHEN & ØRSKOV, 2014), sendo maior principalmente quando há maior partição de aminoácidos precursores de bases purinas para outras rotas metabólicas. Nesse sentido, a limitação do método de excreção urinária de DP, para estimar a síntese de proteína microbiana, reside no fato de que o modelo não corrige a fração de DP, que sofre reabsorção tubular renal, entre outros fatores (CHEN &ØRSKOV, 2014).

A alteração na TFG pode provocar variações na carga de filtração de metabólitos sanguíneos, incluindo os derivados de purinas, ureia e compostos nitrogenados totais e até mesmo a creatinina. Neste estudo, a concentração de creatinina plasmática (Tabela 6) não foi alterada em função das diferentes dietas experimentais, consistente com a constância da TFG, confirmando sua utilização para estimar a TFG (BROWN et al. 1990).

As perdas de nitrogênio pelas vias urinárias estão relacionadas com o teor de proteína degradável no rúmen contido na dieta, sendo que, quanto maior o consumo desse nutriente, maior é a quantidade de amônia produzida, que poderá exceder a utilização pelos microrganismos ruminais, quando não houver sincronismo com a utilização de energia, resultando em maior síntese de ureia no fígado e, consequentemente, aumento na excreção via urina (SANTOS et al., 2014).

Dessa forma, verificou-se que a dieta experimental contendo farelo de algaroba como fonte energética apresentou (P<0,05) perda mais elevada de nitrogênio através da urina em relação às demais dietas (Tabela 6), sendo esse resultado condizente com a maior ingestão voluntária de proteína bruta observada na Tabela 4, e, assim, pode-se evidenciar que a coleta de urina total é uma medida acurada, quando objetiva-se obter diferenças entre dietas experimentais.

Os estudos sobre balanço de nitrogênio comprovam que a ureia é responsável pela maior proporção dos compostos nitrogenados excretados por mamíferos. Dessa forma, a excreção urinária de nitrogênio total neste estudo seguiu o mesmo comportamento verificado para as excreções de N-ureico, apresentando diferença significativa (P<0,05) e superioridade para a dieta contendo farelo de algaroba (Tabela 6).

A razão de concentração entre DP: creatinina em amostra de urina *spot* pode ser usada para predizer a síntese de proteína microbiana de forma precisa, uma vez que é pouco afetada pelo tempo (GEORGE et al., 2011). Para tal, essas estimativas devem ser construídas a partir do *índice* DPC por levar em consideração o peso metabólico animal (CHEN et al., 2004).

O *índice* DPC na urina total de cordeiros alimentados com diferentes fontes energéticas variou (P<0,05) entre as dietas apresentando comportamento semelhante à excreção total de DP (Tabela 6), assim, pode-se pressupor que o *índice* DPC obtido por meio da coleta de urina total também foi eficiente em detectar diferenças entre as dietas experimentais, devido à ausência de alterações da TFG.

De acordo com Chen & Ørskov (2014), por definição, o *índice* DPC segue uma relação de linearidade com a excreção de DP (mmol/dia), que pode ser calculada quando o *índice* DPC é multiplicado pela excreção diária de creatinina (mmol/kg PC ^{0,75}) para uma raça específica de animais, sem necessidade de coleta de urina total. No entanto, isso não pode ser aplicado quando há alteração na TFG.

Para as excreções dos derivados de purinas, quando expressos em mmol e mmol/kg PC ^{0,75} e *índice* DPC, foram verificadas diferenças significativas (P<0,05) para a detecção de efeito de dietas, ao utilizar amostras de urina *spot* coletadas em intervalos de 4 horas após a primeira alimentação do dia, e também com as obtidas a partir da coleta de urina total (Tabela 7), entretanto, não detectou diferenças (P>0,05) entre os diferentes horários de coletas.

Ao analisar esse resultado, pode-se evidenciar que os dois métodos de coleta de urina diferiram, observando maior precisão do método de coleta de urina total (Tabela 6). Esta afirmação é decorrente da não observação de efeito de dietas sobre a excreção urinária de DP e *índice* DPC, quando foram consideradas as médias de tratamentos, independente dos horários de coleta de urina *spot* (04h00, 08h00, 12h00, 16h00, 20h00 e 24h00) (Tabela 8).

Ressalta-se que as variações diurnas nas medidas de DP em urina *spot* podem reduzir a precisão dessa técnica (CHEN & ØRSKOV 2014), o que pode ser observado pelas probabilidades muito próximas a 5% de significância para essa variável-resposta em função do tempo de coleta (Tabela 8). Diante dos resultados obtidos, pode-se sugerir que o método de coleta de urina total, quando não houver alterações da TFG, seja a mais recomendada por proporcionar maior exatidão e precisão, quando objetiva-se avaliar os efeitos de diferentes alimentos sobre a síntese de proteína microbiana, e o uso de amostragem de urina *spot* poderá ser recomendada, quando não houver variação circadiana na excreção de DP na urina.

Para excreção de ureia e nitrogênio ureico na urina de cordeiros, quando comparada na amostra proveniente de coleta total de urina com a excreção estimada, utilizando amostras de urina *spot* entre os horários de coleta avaliados, não foi constatada diferenças (P>0,05) entre si, entretanto, detectou-se efeito significativo (P<0,05) para dietas experimentais (Tabelas 7 e 8). Ao comparar esses resultados com os obtidos a partir da coleta de urina total (Tabela 6), e ao considerar todos os seis tempos pontuais de urina *spot* contrastados entre si (Tabela 8), evidencia-se uma resposta precisa para essas variáveis-respostas, o que torna possível a utilização da amostra de urina *spot* para estimar a excreção desse metabólito.

Tabela 7. Médias de quadrados mínimos e valores de probabilidade dos efeitos de tratamento, tempo e interação tratamento x tempo da excreção de metabólitos urinários utilizando a coleta total e urina *spot* obtida a cada 4 horas, de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas

Item	Tratamento (T)					P	Tempo de Coleta (C)							EPM	P	T x C
	1	2	3	4	5		4	8	12	16	20	24	Total			
VU	1,91	1,42	1,47	1,88	1,27	0, 422	1,62	2,02	1,55	1,72	1,40	1,23	1,68	0,08	0, 007	0, 507
DP[a]	45,19	40,37	42,30	47,50	30,57	0, 013	43,0	47,76	42,56	45,78	37,37	34,33	37,59	1,65	0, 483	0, 798
DP[b]	1,67	1,36	1,34	1,56	1,11	0, 069	1,51	1,64	1,42	1,57	1,28	1,18	1,26	0,05	0, 630	0, 787
DP[c]	3,80	3,17	3,16	3,65	2,54	0, 035	3,47	3,80	3,31	3,64	2,97	2,72	2,93	0,12	0, 591	0, 787
U[a]	423,4	452,6	535,5	742,1	272,0	0, 0001	552,3	498,7	440,7	559,2	491,2	401,2	452,4	0,36	0, 162	0, 976
U[b]	15,87	15,38	17,26	24,69	9,92	0, 0001	20,05	17,13	14,96	18,75	16,52	13,56	15,04	0,01	0, 099	0, 978
U[c]	36,02	35,75	40,61	57,61	22,68	0, 0001	45,82	39,68	34,76	43,71	38,48	31,54	35,75	0,03	0, 114	0, 978
NU[a]	197,6	211,2	249,9	346,3	126,4	0, 0001	257,7	232,8	205,7	261,0	229,2	187,3	211,1	11,9	0, 162	0, 976
NU[b]	7,40	7,17	8,06	11,52	4,63	0, 0001	9,36	7,99	6,98	8,75	7,71	6,33	7,19	0,72	0, 099	0, 978
NU[c]	16,81	16,68	18,95	26,89	10,59	0, 0001	21,38	18,52	16,22	20,39	18,0	14,72	16,68	1,66	0, 114	0, 978
NT[d]	3,96	4,17	4,62	6,79	2,20	0, 002	2,99	2,76	3,03	3,42	2,69	3,02	12,76	10,2	0, 0001	0, 006
NT[e]	0,15	0,14	0,15	0,22	0,08	0, 0001	0,11	0,09	0,09	0,11	0,09	0,10	0,43	0,34	0, 0001	0, 0001
NT[f]	0,34	0,33	0,35	0,52	0,18	0, 0001	0,25	0,22	0,23	0,27	0,21	0,23	1,00	0,78	0, 0001	0, 0003
DPC	85,26	77,76	91,70	91,08	58,16	0, 002	78,72	105,4	90,9	86,0	70,20	64,42	70,01	4,22	0, 747	0, 933

Análises de contrastes

	Total x 4	Total x 8	Total x 12	Total x 16	Total x 20	Total x 24
VU	0, 7891	0, 0907	0, 5153	0, 8394	0, 1630	0, 2280
DP[a]	0, 2378	0, 1763	0, 2737	0, 0724	0, 9612	0, 4725
DP[b]	0, 1201	0, 1874	0, 3191	0, 0508	0, 8835	0, 5975
DP[c]	0, 1419	0, 2886	0, 3068	0, 0544	0, 9135	0, 5624

U[a]	0, 1310	0, 4819	0, 8591	0, 1066	0, 5556	0, 4378
U[b]	0, 0500	0, 4643	0, 8517	0, 1559	0, 6347	0, 4345
U[c]	0, 0632	0, 4658	0, 8550	0, 1411	0, 6115	0, 4350
NU[a]	0, 1310	0, 4819	0, 8591	0, 1066	0, 5556	0, 4378
NU[b]	0, 0500	0, 4647	0, 8503	0, 1562	0, 6357	0, 4336
NU[c]	0, 0632	0, 4658	0, 8546	0, 1411	0, 6117	0, 4347
NT[d]	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001
NT[e]	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001
NT[f]	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001	<0, 0001
DPC	0, 0536	0, 4474	0, 1098	0, 2208	0, 9889	0, 6667

VU: volume urinário; DP: derivados de purinas; U: ureia; NU: nitrogênio ureico; NT: nitrogênio total; DPC: [derivados de purina /creatinina - mmol/L] x PC ^{0,75}; [a]: mmol/dia;[b]: mmol/kg PC;[c]: mmol/kg PC ^{0,75};[d]: g/dia;[e]: g/kg PC;[f]: g/kg PC ^{0,75}

Assim, há evidência de que a amostra de urina *spot*, obtida em qualquer horário, estime adequadamente a excreção de ureia e nitrogênio ureico. Efeito semelhante foi relatado por Pereira et al. (2013a), ao trabalharem com amostras de urina *spot* em cordeiros, que não verificaram variação para a excreção de ureia ao longo de um período de 24 horas (com coleta a cada 4 horas). Sugerindo a coleta de amostra de urina *spot* em qualquer intervalo, a cada quatro horas pós-prandial.

Tabela 8. Valores de probabilidade dos efeitos de tratamento, tempo e interação tratamento x tempo da excreção de metabólitos urinários utilizando a coleta de urina *spot* obtida a cada 4 horas, de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas

Item	Urina *Spot*		
	Tratamento	Tempo	Tratamento x Tempo
		Volume Urinário	
L/dia	0, 4012	0, 0082	0, 5213
		Derivados de Purina	
mmol/dia	0, 2924	0, 0563	0, 6510
mmol/PC	0, 2388	0, 0621	0, 6673
mmol/PC ^{0,75}	0, 2487	0, 0580	0, 6595
		Ureia	
mmol/dia	0, 0004	0, 1402	0, 9394
mmol/PC	0, 0005	0, 0966	0, 9549
mmol/PC ^{0,75}	0, 0002	0, 1072	0, 9518
		N-Ureico	
mmol/dia	0, 0004	0, 1402	0, 9394
mmol/PC	0, 0005	0, 0963	0, 9548
mmol/PC ^{0,75}	0, 0002	0, 1070	0, 9517
		Nitrogênio Total	
g/dia	0, 0096	0, 6959	0, 9980
g/PC	0, 0008	0, 5461	0, 9924
g/PC ^{0,75}	0, 0014	0, 5813	0, 9957
		Índice PDC	
	0, 3560	0, 0516	0, 3859

Urina *spot:* 4h00, 8h00, 12h00, 16h00, 20h00 e 24h00 após primeira alimentação matinal

Diferença significativa (P<0,05) foi verificada para a excreção de nitrogênio total, quando se comparou as médias obtidas pelo método de coleta de urina total com as estimadas por meio de coletas por amostragem, realizada nos tempos de 4h00, 8h00, 12h00, 16h00, 20h00 e 24h00, após a alimentação da manhã (Tabela 7), evidenciando que a utilização de amostra de urina *spot*, como método para substituir a coleta de urina

total, é pouco acurado para estimar a excreção desse grupo de compostos químicos para os estudos de balanço de nitrogênio.

O resultado encontrado nesta pesquisa difere do relatado por Pereira et al. (2013a), ao comparar a excreção de nitrogênio total obtido mediante coleta de urina total, com a estimada a partir da coleta de urina *spot*, a cada quatro horas após a alimentação da manhã, no qual se verificou somente diferença significativa da amostragem realizada às 4h00, 12h00 e 20h00, após a alimentação matinal com a coleta de urina total.

Vale ressaltar ainda que foi detectada diferença significativa ($P<0,05$) entre as dietas para a excreção diária de nitrogênio total na urina ao considerar seis tempos pontuais de urina *spot* (Tabela 8), comportamento semelhante ao observado com a coleta de urina total (Tabela 6).

Dessa forma, independente do horário de coleta de urina *spot*, houve diferença nas excreções diárias de nitrogênio total em função das dietas, quando comparada com aquelas obtidas com a coleta de urina total (Tabela 7), evidencia-se resposta precisa para a detecção de diferenças entre as dietas experimentais, quando o número de amostragens pontuais de urina *spot* aumenta, embora a exatidão desse método seja baixo, o que compromete sua acurácia.

CONCLUSÕES

As excreções diárias de creatinina e compostos nitrogenados não são influenciados pela duração do período de coletas de urina total, recomendando-se coleta de 24 horas de duração.

A utilização de diferentes fontes energéticas na dieta balanceada não promove alterações na taxa de filtração glomerular, nessas condições, o método de coleta de urina total por 24 horas se mostra preciso, acurado, confiável e representativo, quando comparado ao método de amostragem de urina *spot*, para a obtenção da excreção urinária dos derivados de purina, quando existe variação no ritmo circadiano.

A coleta de urina *spot* para a estimação da excreção de ureia pode ser realizada em qualquer intervalo, a cada quatro horas pós-prandial, pois pode-se obter diferenças relativas entre as dietas experimentais.

Para os compostos nitrogenados totais, é recomendada a utilização da coleta de urina total e a amostragem de urina *spot* é pouco acurada para quantificação de nitrogênio total em estudos de balanço de nitrogênio, a não ser que se aumente o número de amostragens ao longo do dia, para que se obtenha maior acurácia.

REFERÊNCIAS

AFRC. Energy and protein requirement of ruminants. **Anadvisory manual prepared by AFRC technical committee on response to nutrients**.CAB International, Wallingford, UK, p.5-55, 1993.

ARGÔLO L.S.; PEREIRA, M.L.A.; DIAS, J.C.T.; CRUZ, J.F. DEL REI, A.J. OLIVEIRA, C.A.S. Farelo da vagem de algaroba em dietas para cabras lactantes: parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.3, p.541-548, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**.16.ed.Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.

BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; VÉRAS, R.M.L; LEÃO, M.I.; DETMAN, E;PAULINO, M.F.;MARCONDES, M.I.;SOUZA,M.A. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.35, n.3, p.870-877, 2006.

BROWN, S.A.; GROVES, C.; BARSANTI, J.A.Determination of excretion of inulin, creatinine, sodium sulfanilate, and phenolsulfonphthalein to asses renal function in goats. **American Journal of Veterinary Research.**51(4):p. 581-586, 1990.

CHEN, X.B andØRSKOV, E.R. **International Feed Resources Unit**, Macaulay Land Use Research Institute,Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdom. Acesso em 25 de outubro de 2014: http://www.macaulay.ac.uk/IFRU/pdf/pd_review.pfd.

CHEN, X.B.; JAYASURIYA, M.C.N.; MAKKAR, H.P.S.Measurement and application of purine derivatives: creatinine ratio in spot urine samples of ruminants. In: Makkar, H.P.S., Chen, X.B. (Eds.), Estimation of Microbial Protein Supply in Ruminants Using Urinary Purine Derivatives. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, pp.167–179, 2004.

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

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C; VALADARES, R.F.D.; CHIZZOTTI, F.H.M.; TEDESCHI, L.O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science,** v.113, p. 218–225, 2008.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** - INCT - Ciência Animal. Visconde do Rio Branco: Suprema, p. 214, 2012.

GEORGE, S.K., DIPU, M.T., MEHRA, U.R., VERMA, A.K., SINGH, P. Influence of level of feed intake on concentration of purine derivatives in urinary spot samples and microbial nitrogen supply in crossbred bulls. **Asian- Australasian Journal of Animal Sciences.** v.9, p.1291-1297, 2006.

GEORGE, S.K.; VERMA, A.K.; MEHRA, U.R.; DIPU, M.T and SINGH, P. Evaluation of purine metabolites - creatinine index to predict the rumen microbial protein synthesis from urinary spot samples in Barbarigoats. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.20, p.509–525, 2011.

LEAL, T.L.; VALADARES, R.F.D. VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E.; BARBOSA, A. M.; CHIZZOTTI, M.L; PAIXÃO, M.L. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.896-904, 2007(a).

LEAL, T.L., VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; CAMPOS, J.M.S.; DETMANN, E.; BARBOSA, A.M.; TEXEIRA, R.M.A.; MARCONDES, M.I. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.36, n.4, p.905-911, 2007(b).

LIZIEIRE, R.S.; SILVA, J.F C.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; CAMPOS, O.F. Níveis crescentes de proteína degradada no rúmen de cabras. I. Efeitos sobre consumo, digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.6, p.552-561, 1990.

MAKKAR, H.P.S. Development, standardization and validation of nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity. In: Makkar, H.P.S., Chen, X.B. (Eds.), Estimation of Microbial Protein Supply in Ruminants Using Urinary Purine Derivatives. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, pp. 1–13, 2004.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL–NRC. **Nutrient Requirements of Small Ruminants**: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academies Press, 2007.

PEREIRA, M.L.; PEREIRA, T.C.J.; SILVA, H.G.O.; CRUZ, J.F.; ALMEIDA, P.J.P.; SANTOS, A.B, SANTOS, E.J.; PEIXOTO, C.A.M. Substitution of corn by mesquite pod mealin pellet diets for lambs: nitrogen compounds metabolism. Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production. **4th International symposium on energy and protein metabolism and nutrition.** Sacramento, Califórnia, USA.2013 (a).

PEREIRA, M.L.; SANTOS, A.B.; DEL REI, A.J.; CRUZ, J.F.; ALMEIDA, P.J.P.; PEREIRA, T.C.J.; SANTOS, E.J.; PEIXOTO, C.A.M. Excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in lactating goats fed other protein sources. Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production. **4th International**

symposium on energy and protein metabolism and nutrition. Sacramento, Califórnia, USA. 2013 (b).

PEREIRA, T.C.J. **Substituição do milho pelo farelo de algaroba em dietas peletizadas para cordeiros.** 72p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2012.

RIBEIRO, L.S.O. **Farinha de pupunha na alimentação de caprinos confinados.** 126p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2014.

SANTOS, A.B. **Farinha de pupunha na alimentação de cordeiros confinados.** 109p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2015.

SANTOS, A.B.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, H.G.O.; PEDREIRA, M.S.; CARVALHO, G. G. P. RIBEIRO, L. S. O; ALMEIDA, P. J. P.; PEREIRA, T. C. J. and MOREIRA, J.V. Nitrogen metabolism in lactating goats fed with diets containing different protein sources.**Asian-AustralasianJournalof Animal Science**. v. 27, n. 5: p.658-666, May 2014.

SANTOS, E.J.; PEREIRA, M.L.A.; ALMEIDA, P.J.P.; SANTOS, A.B.;PEREIRA, T.C.J.; SILVA, T.V.B.S.; SANTOS, B.M.; SOUZA, A.C.S.; FREIRE, L.D.R.; OLIVEIRA, L.N. Estimativa do volume urinário por meio do uso da creatinina em ovinos alimentados com farelo de vagem de algaroba (*prosopis juliflora).* In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ZOOTECNISTAS, 2009, Lavras. **Anais...** Águas de Lindóia/SP: ZOOTEC, 2009. (CD-ROM).

SAS INSTITUTE. Statistical Analysis System. **User'sguide**.Cary: SAS Institute, 2006.

SEJRSEN, K.; HVELPLUND. T.; NIELSEN. M.O. **Ruminant physiology**: Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress. Wageningen Academic Publishers, The- Netherlands, 2008.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M.; SAMPAIO, I.B; VALADARES FILHO, S.C. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279- 1282,1997.

VI - CAPÍTULO 3

FONTES ENERGÉTICAS EM DIETAS DECORDEIROS EM CONFINAMENTO

RESUMO: Objetivou-se avaliar o consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes, variação do peso corporal, balanço de nitrogênio, excreção de ureia e a síntese de proteína microbiana de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas (milho, farelo de trigo, sorgo, farelo de algaroba e farinha de pupunha) no concentrado. Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, com peso corporal de 22,85±1,0 kg ao início do experimento, distribuídos em um quadrado Latino 5 x 5, com 5 períodos de 19 dias de duração cada. As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas, contendo 16,2% de proteína bruta, compostas por 60% de feno de capim-Tifton 85 e 40% de concentrado. As dietas foram calculadas para atender às exigências nutricionais para ganho de peso 200g/dia. Os animais alimentados com as dietas contendo sorgo e farelo de algaroba como fontes energéticas apresentaram consumo de matéria seca superior à farinha de pupunha. As digestibilidades aparentes da MS, MO, PB, CNF_{cp} e NDT foram semelhantes entre as fontes energéticas avaliadas. A excreção de ureia e nitrogênio ureico na urina foi influenciada pela dieta, sendo que dieta contendo farelo de algaroba apresentou média superior em comparação às demais. As médias da concentração de nitrogênio ureico plasmático diferiram entre si, sendo que a dieta contendo farinha de pupunha apresentou menor média, quando comparado com o milho, farelo de trigo, sorgo e farelo de algaroba. Dieta contendo farinha de pupunha como fonte energética proporciona menor excreção de nitrogênio na urina e balanço de nitrogênio negativo. Os animais alimentados com a dieta contendo farelo de algaroba (80,38 g/dia) apresentam síntese de proteína microbiana superior à farinha de pupunha (24,47 g/dia). As fontes energéticas contendo farelo de trigo, sorgo e farelo de algaroba podem substituir o milho em dietas para cordeiros em confinamento.

Palavras-chave: balanço de nitrogênio, consumo, digestibilidade, síntese de proteína microbiana.

VI–CHAPTER III

ENERGY SOURCES IN DIETS FOR LAMBS IN CONFINEMENT

ABSTRACT: The objective was to evaluate the intake, apparent digestibility of nutrients, body weight variation, nitrogen balance, urea excretion and the microbial protein synthesis lambs fed diets containing different energy sources (corn, sorghum, wheat bran, mesquite pod meal, and peach palm meal). Five Santa Inês × undefined-breed crossbred lambs at an average age of four months and weighing 22.85 ± 1.0 kg at the beginning of the experiment were used. The animals were distributed in a 5 × 5 Latin square (LS) design with five treatments and five replicates, receiving diets composed of 60% Tifton 85 hay and 40% concentrate. The experimental period was 95 days, consisting of five 19-day periods. Diets were calculated to meet the nutritional requirements for a weight gain of 200 g/day. The animals fed diets containing sorghum and mesquite pod meal as energy sources showed higher dry matter intake ($P < 0.05$) the peach palm meal. The apparent digestibility of DM, OM, CP, NFCcp and TDN were similar between the evaluated energy sources. The excretion of urea and urea nitrogen in urine showed significant effect, with diet containing mesquite pod meal showed higher average compared to others. The mean plasma urea nitrogen concentration differed, and the peach palm meal-containing diet showed lower average when compared with corn, wheat bran, sorghum and mesquite pod meal. Diet containing peach palm meal as an energy source provides less nitrogen excretion in urine and negative nitrogen balance. The animals fed with diets containing mesquite pod meal (80.38 g/day) showed upper microbial protein synthesis to peach palm meal (24.47 g/day). Energy sources containing wheat bran, sorghum and mesquite pod meal can replace corn in diets for feedlot lambs in confinement.

Key words: nitrogen balance, intake, digestibility, microbial protein synthesis.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui um rebanho efetivo de ovinos de 16,8 milhões de cabeças, e a região Nordeste detém o maior efetivo (56,7%) em comparação a outras regiões brasileiras (IBGE, 2013). Apesar da grande importância da ovinocultura para o Nordeste brasileiro, a condição de estação seca anual e a instabilidade que ocorrem periodicamente são fatores agravantes e responsáveis pelo baixo desempenho dos animais.

Uma estratégia utilizada no intuito de melhorar o desempenho dos rebanhos nordestinos de pequenos ruminantes, caracterizados por baixos índices produtivos, seria o manejo alimentar adequado, principalmente na época de escassez de forragens, usando o sistema intensivo de produção (PEREIRA et al., 2014a).

O confinamento de animais apresenta-se como uma alternativa viável, no entanto, nem sempre esse sistema de produção é economicamente viável, uma vez que sua viabilidade está atrelada às oscilações de preço dos grãos, principalmente milho e soja. Uma possibilidade para amenizar os efeitos dessa situação sazonal é reduzir o custo das dietas empregadas nesse sistema de produção (LAGE et al. 2010). O milho é o concentrado energético mais utilizado na formulação de dietas em confinamentos. Entretanto, o preço atrativo de outros cereais, como sorgo e o trigo, e a crescente oferta de alimentos disponíveis localmente têm estimulado o interesse dos produtores pela utilização dessas fontes energéticas alternativas.

O farelo de algaroba apresenta-se como um alimento alternativo na região Nordeste, isso porque a algarobeira [*Prosopis juliflora (SW) D.C.*] é capaz de conviver harmoniosamente com o fenômeno da seca e de produzir em média de frutos de 6 toneladas/ha/ano, dependendo da zona bioclimática em que são cultivados e manejados os algarobais (RIBASKI et al., 2009). Sendo considerada uma importante fonte energética disponível no semiárido, pode substituir o milho, por apresentar em sua composição química 9,1% de proteína bruta, 28,2%de fibra em detergente neutro isenta de cinza e proteína, e 58,4% de carboidratos não fibrosos, entre outros (ALVES et al. 2010).

Também na região nordeste, sobretudo na Bahia, destaca-se a produção de resíduos de frutos de pupunha, que vêm crescendo no Sul da Bahia, devido à valorização do palmito e, consequente, agregação de valor às sementes que são extraídas dos frutos. Desse processo, resulta uma elevada quantidade da polpa de frutos,

que ainda não possui destinação adequada. A disponibilidade deste coproduto tem se apresentado como uma potencial alternativa alimentar na substituição do milho em dietas de ruminantes, devido à semelhança em termos de composição química, diferenciando apenas por apresentar maior teor de extrato etéreo que, a depender do nível utilizado nas dietas, pode afetar a digestibilidade da fração fibrosa.

Portanto, para que esses alimentos possam ser utilizados com eficiência na produção animal, é necessário conhecer não apenas a sua composição química como também os seus efeitos na nutrição e produção animal. Nesse sentido, faz-se necessário a condução de pesquisas na área de nutrição que avaliem alimentos energéticos alternativos em substituição ao milho, para manter a qualidade nutricional da dieta e viabilizar a criação de ovinos em diversas regiões do país, e até mesmo aproveitar as potencialidades regionais de alimentos alternativos.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o consumo, a digestibilidade aparente dos nutrientes, a variação do peso corporal, o balanço de nitrogênio, a excreção de ureia e a síntese de proteína microbiana em cordeiros alimentados com diferentes fontes energéticas no confinamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Ovinocultura do Departamento de Tecnologia Rural e Animal- DTRA, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* Juvino Oliveira, Itapetinga-BA. Localizada a 15º 09’ 07” de latitude sul, 40º 15’ 32” de longitude oeste de Greenwich e altitude média de 268 m. A temperatura e a precipitação pluviométrica média anual são, respectivamente, 27ºC e 800 mm.

Foram utilizados cinco cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, machos não castrados, com idade média de quatro meses e peso corporal ao início do experimento de 22,85 ±1,0kg. Os animais foram identificados com brincos numerados, vermifugados e confinados em gaiolas metabólicas de 1,0 x 0,80 m (0,80 m²), com acesso a comedouros e bebedouros individuais, distribuídos em um delineamento em quadrado Latino 5 x 5, com cinco tratamentos e cinco repetições. O experimento teve duração de 95 dias, sendo compostos de cinco períodos de 19 dias cada (quatorze de adaptação às dietas e cinco para coleta de amostras).

As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas (16,2% PB) e de modo a permitir taxa de ganho de peso de 200 g/dia, conforme recomendação do NRC (2007) para cordeiros. Os tratamentos testados constituíram de diferentes fontes energéticas no concentrado: milho, farelo de trigo, sorgo, farelo de algaroba e farinha de pupunha, sendo compostas de 60% feno de capim-Tifton 85 e 40% concentrado. Na Tabela 1 constam a proporção dos ingredientes dos concentrados e, nas Tabelas 2 e 3, a composição do feno dos concentrados e das dietas experimentais, respectivamente.

O farelo de algaroba foi proveniente da empresa RIOCON® (Fazendas Reunidas Rio de Contas Ltda), obtido após a colheita, realizada por catação, seguido da trituração. A trituração foi feita em maquinário apropriado, tipo betoneira, e antecedeu a secagem do material. Utilizou-se secador da marca D’Andrea®, cujo material permaneceu por aproximadamente 10 horas em temperatura média de 60ºC até a obtenção de 7 a 10% de umidade. Após essa fase, ocorreu a moagem com moinho Koopers® para a obtenção do farelo.

A farinha de pupunha foi produzida em casa de farinha do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – IF BAIANO, *campus* Uruçuca - BA. A polpa do fruto já descaroçado foi fornecida pela Indústria de Alimentos no Mercado de Palmitos – INACERES, localizada em Uruçuca - BA. A polpa obtida foi desidratada em barcaças de secagem de cacau por três dias consecutivos, com revolvimento constante

até reduzir a umidade pela metade, em seguida, desintegrada em um triturador de mandioca e, posteriormente, a massa triturada foi conduzida para o torrador de farinha mecanizado. Essa operação de torra foi realizada entre 30 e 40 minutos, com revolvimento mecânico da massa por auxílio de rodos de madeira, até a secagem final da farinha, aproximadamente 13% de umidade. Com a perda da umidade promovida pela torração, pode-se verificar o clareamento da massa para farinha.

Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes da dieta (% na MS)

Ingredientes	Fontes energéticas				
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha
Feno de Tifton 85	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0
Farelo de Soja	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho	27,0	--	--	--	--
Farelo de Trigo	--	29,0	--	--	--
Sorgo	--	--	28,4	--	--
Farelo de Algaroba	--	--	--	27,0	--
Farinha de Pupunha	--	--	--	--	27,0
Suplemento Mineral[1]	1,5	1,0	0,9	1,4	1,4
Ureia	1,5	0,0	0,7	1,6	1,6
Total	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**

*Composição da mistura mineral:Cálcio: 168,00 g, Fósforo: 85,00 mg, Cobre:600,00 mg, Ferro:1.850,00 mg, Cobalto:45,00 mg, Iodo:80,00 mg, Manganês:1.350,00 mg

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, sempre às 07h00min e 16h00min, *ad libitum*, de modo a permitir, no máximo, 10% de sobras. A água sempre foi trocada pela manhã e reabastecida à tarde. Para efeito de quantificação e avaliação do consumo voluntário, foram considerados os alimentos fornecidos e sobras durante os cinco dias de coleta de cada período experimental. O consumo voluntário foi calculado pela diferença entre o fornecido e as sobras. Os animais foram pesados no início e no final de cada período experimental, para obtenção da variação do peso corporal. A variação de peso corporal foi calculada pela diferença de peso dos animais nas datas de pesagem, dividido pelo número de dias do período.

Em cada período experimental, foram colhidas amostras do fornecidos, tanto do volumoso quanto do concentrado, bem como das sobras, os quais foram acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em freezer a -20°C. Após o descongelamento, as amostras foram submetidas à pré-secagem em estufa de

ventilação forçada a 55±5°C. Em seguida, trituradas em moinho de faca, tipo Willey, com peneira de 1 mm, e foram feitas amostras por animal e período, e identificadas para posteriores análises laboratoriais.

Tabela 2. Composição químico-bromatológica do feno de Tifton 85 e dos concentrados

Item	Feno de Tifton 85	Concentrados				
		Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha
MS	92,1	91,8	92,0	91,0	90,6	92,6
MO[1]	92,0	94,4	93,8	95,5	92,6	94,1
Cinza[1]	8,0	5,6	6,2	4,5	7,4	5,9
PB[1]	5,8	21,5	20,7	22,1	24,7	22,8
PIDN[2]	38,0	32,0	33,0	34,7	12,4	21,2
PIDA[2]	22,9	11,0	12,2	14,2	6,0	7,0
EE[1]	2,3	2,9	2,5	2,6	2,0	5,4
CT[1]	83,9	68,7	69,4	68,1	63,5	63,9
CNF[1]	2,4	34,5	20,3	34,6	30,9	46,2
CNFcp[1]	7,7	42,5	27,3	43,0	34,7	50,3
FDN[1]	81,5	34,3	51,1	33,5	32,6	17,7
FDNcp[1]	76,2	26,2	43,9	25,2	28,8	13,5
FDA[1]	47,0	10,2	19,9	13,5	21,3	7,7
Hemicelulose[1]	34,5	24,1	31,2	20,0	11,3	10,0
Celulose[1]	36,7	9,8	15,8	13,3	18,0	7,2
Lignina[1]	10,3	2,1	2,9	1,0	3,2	1,0
NDT[1, 3]	47,7	75,9	70,7	77,3	71,2	85,2

1/ Valores em percentagem da MS. 2/ Valores em percentagem da PB. 3/ Estimado segundo NRC (2001). Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), CNF corrigido para cinza e proteína (CNFcp), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigido para cinza e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA) e nutrientes digestíveis totais (NDT)

As análises químicas e bromatológicas dos alimentos, sobras e fezes foram realizadas no laboratório de Forragicultura e Pastagem da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-BA. Nas amostras dos alimentos (sobras e fornecidos), foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), de acordo a AOAC (1995). Para as análises da fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram analisadas com alfa-amilase termoestável, sem o uso de sulfito de sódio e corrigidas para cinzas residuais (MERTENS, 2002).

A correção da FDN para os compostos nitrogenados e estimação dos conteúdos de compostos nitrogenados insolúveis nos detergentes neutro (NIDN) e ácido (NIDA)

foram feitas conforme Licitra et al. (1996). A lignina foi obtida a partir do método descrito em Detmann et al. (2012), com o resíduo da FDA analisada com ácido sulfúrico a 72%.

Tabela 3. Composição químico-bromatológicadas dietas experimentais

Item	Dietas				
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de pupunha
MS	91,9	92,0	91,5	91,2	92,4
MO[1]	93,4	93,0	94,0	92,0	92,6
Cinza[1]	6,6	7,0	6,0	7,7	6,8
PB[1]	15,2	14,8	15,6	17,1	16,0
PIDN[2]	34,4	35,0	36,0	22,6	27,9
PIDA[2]	17,3	19,2	18,0	14,3	14,9
EE[1]	2,7	2,4	2,5	2,1	4,2
CT[1]	74,8	75,2	74,4	71,7	71,9
CNF[1]	28,6	19,5	28,9	26,3	33,2
FDNcp[1]	46,2	56,8	45,6	47,8	38,6
FDA[1]	24,9	30,7	26,9	31,6	23,4
Hemicelulose[1]	28,2	32,5	25,8	20,6	19,8
Celulose[1]	20,6	24,2	22,7	25,5	19,0
Lignina[1]	5,3	5,9	4,7	6,1	4,7
NDT[1, 3]	64,6	61,5	65,4	62,9	70,2
EL (Mcal/kg)[3]	1,5	1,4	1,5	1,4	1,6
ED (Mcal/kg)[3]	2,8	2,7	2,9	2,8	3,1
EM (Mcal/kg)[3]	2,4	2,3	2,5	2,4	2,7

1/ Valores em percentagem da MS. 2/ Valores em percentagem da PB. 3/ Estimado segundo NRC (2001). Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CT), CNF corrigido para cinza e proteína (CNFcp), fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia digestível (ED), energia metabolizável (EM) e energia líquida (EL).*Análises realizadas no laboratório de Forragicultura e pastagens da UESB.

Segundo Sniffen et al. (1992), os carboidratos totais (CT) foram estimados da seguinte forma:

$$CT = 100 – (\%PB + \%EE + \%cinza).$$

A concentração dos carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculada com adaptação ao proposto por Hall (2003), utilizando o FDN_{cp}, sendo:

$$CNF = (100 – \%FDNcp – \%PB – \%EE – \%cinza).$$

Os teores de nutrientes digestíveis totais estimados (NDTest) dos alimentos foram calculados conforme equações descritas pelo NRC (2001).

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) obtidos com ensaios de digestibilidade para as dietas foram calculados segundo Weiss (1999), pela seguinte equação:

$$NDT = PBD + 2{,}25EED + CTD.$$

Em que: PBD = PB digestível; EED = EE digestível e CTD= carboidratos totais digestíveis.

Os valores de NDT das dietas foram convertidos em energia líquida (EL) e energia digestível (ED), utilizando-se as equações sugeridas pelo NRC (2001):

$$EL\ (Mcal/kg) = 0,\ 0245 \times NDT - 0,\ 12;$$

$$ED\ (Mcal/kg) = 0,\ 04409 \times NDT.$$

A transformação de ED para energia metabolizável (EM) foi feita segundo a equação:

$$EM\ (Mcal/kg) = 1{,}01 \times ED\ (Mcal/kg) - 0{,}45.$$

Para a avaliação da digestibilidade aparente, a coleta total de fezes foi efetuada do 17° ao 19° dia de cada período experimental. A coleta efetuada em cada período, por animal, foi realizada com o auxílio de bolsas coletoras de napa, adaptadas aos animais. As fezes foram pesadas pela manhã e tarde, e retirados aproximadamente 10% do total. As amostras de fezes foram pré-secas, moídas em moinho de faca com peneira de malha de 1,0 mm, posteriormente, foram feitas amostras compostas por dia para cada animal. Segundo proposto por Berchielli et al. (2011), uma vez determinado o teor de excreção fecal da matéria seca, foram calculados os coeficientes de digestibilidade (CD) dos demais nutrientes por meio da razão do que foi consumido de cada nutriente e sua respectiva excreção fecal, sendo o valor multiplicado por 100, como demonstrado abaixo:

$$CD = \frac{(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado})}{(\text{nutriente ingerido})} \times 100$$

No 16° dia de cada período experimental, quatro horas após o fornecimento da ração da manhã, realizou-se a coleta de sangue, via punção da veia jugular, utilizando-se tubo de ensaio (*Vacutainer*^{TM}) de 5 mL com EDTA. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 3.500 rpm, por 10 minutos, obtendo-se o soro sanguíneo, que foram armazenados a -20°C até a realização das análises de ureia.

A coleta total de urina também foi realizada no 16° dia de cada período, utilizando-se recipiente contendo 100 mL de uma solução de ácido sulfúrico a 20% v/ v. Ao término do período de 24 horas de coleta, a urina foi pesada, homogeneizada e

amostrada, retirando uma alíquota de 10% do volume diário em cada período, para posteriores análises. Essas amostras foram elaboradas com pH abaixo de três para evitar a destruição bacteriana dos metabólitos presentes na urina e, logo após, foram armazenadas em frascos plásticos a -20 ºC, as quais foram destinadas à quantificação das concentrações urinárias de ureia, nitrogênio total, alantoína, xantina- hipoxantina e ácido úrico.

No Laboratório de Fisiologia Animal da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, as concentrações de ureia e ácido úrico na urina, e ureia no plasma sanguíneo foram determinados utilizando-se *kits* comerciais (Bioclin®). A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo 0, 4667, fator correspondente ao teor de N na ureia. Os teores urinários de alantoína, xantina-hipoxantina foram determinadas por intermédio de métodos colorimétricos, conforme especificações de Chen & Gomes (1992), sendo o teor de nitrogênio total obtido pelo método de Kjeldhal (SILVA & QUEIROZ, 2002).

O balanço de nitrogênio (N-retido, g/dia) foi calculado com: N-retido = N ingerido (g) – N nas fezes (g) – N na urina total (g).

A excreção de derivados de purinas totais (PT) foi estimada pela soma das quantidades de alantoína, ácido úrico, xantina- hipoxantina excretadas na urina total. A quantidade de purinas microbianas absorvidas (mmol/dia) foi estimada a partir da excreção de derivados de purinas totais (mmol/dia), por meio das equações propostas por Chen & Gomes (1992) para ovinos:

$$PT\ (mmol/dia) = 0{,}84PA + (0{,}150\ PV^{0,75}\ e^{-0,25X})$$

Em que: PA são as purinas absorvidas (mmol/dia); e PT corresponde às purinas totais (mmol/dia).

O fluxo intestinal de N microbiano (g NM/dia) foi estimado a partir da quantidade de purinas absorvidas (X, mmol/dia), segundo a equação descrita por Chen & Gomes (1992):

$$NM = \frac{PA\ (mmol/d) \times 70}{0{,}83 \times 0{,}116 \times 1000}$$

Assumindo-se o valor de 70 para o conteúdo de N das purinas (mg/mmol); 0,83para a digestibilidade intestinal das purinas microbianas e 0,116 para a relação N_{PURINA}:N_{TOTAL} nas bactérias.

As variáveis dependentes (consumo, digestibilidade, variação do peso corporal, balanço de compostos nitrogenados, excreção de ureia e síntese de proteína microbiana) foram avaliadas por meio de análise de variância dos dados a 5% de probabilidade e, quando detectadas diferenças entre dietas, foi aplicado o teste Tukey, utilizando-se o procedimento PROC MIX do SAS (2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de matéria seca foi influenciado pelas dietas experimentais (Tabela 4). Os animais alimentados com as dietas contendo sorgo e farelo de algaroba como fontes energéticas apresentaram consumos superiores à farinha de pupunha, quando expressos em g/dia, g/kg PC, e em g por unidade de tamanho metabólico (g/kg PC ^{0,75}). De acordo com Lizieire et al. (1990), o consumo de matéria seca por ovinos, nas regiões tropicais, geralmente se situa entre 30,0 e 50,0 g/kg de peso corporal, valores condizentes ao observado neste estudo com exceção para farinha de pupunha.

Diversos fatores influenciam a ingestão de alimentos em ruminantes, dentre estes: rejeição, calor, distensão ruminal, aumento de ácidos graxos de cadeia curta e desbalanceamento de nutrientes absorvidos por microrganismos (SILVA, 2011). Durante a condução desse experimento, observou-se que os animais rejeitavam a dieta contendo farinha de pupunha e selecionavam o alimento, preferindo consumir o feno de capim-Tifton e evitando o consumo de concentrado, demonstrando haver algum efeito na palatabilidade ou a aceitação da farinha de pupunha pelos animais. Este efeito possivelmente pode estar associado ao teor de extrato etéreo (Tabela 3) da dieta contendo farinha de pupunha, pois, conforme Palmquist e Mattos (2011), ácidos graxos insaturados, como os encontrados nos vegetais, são tóxicos aos microrganismos ruminais. Segundo Quaranta et al. (2006), a palatabilidade pode ser influenciada pelo olfato, textura, nutrientes e toxinas. Assim, considera-se que, neste experimento, a dieta contendo farinha de pupunha como fonte energética, possivelmente, comprometeu o paladar, sendo um dos possíveis fatores da redução do consumo de matéria seca (Tabela 4).

Os resultados encontrados na literatura têm revelado uma menor aceitabilidade pela farinha de pupunha em relação a outros alimentos, o qual foi observado por Santos (2015) e Ribeiro (2014), relatando consumos decrescentes com o aumento da participação da farinha de pupunha na dieta de cordeiros e caprinos, respectivamente e, reforçado neste trabalho, no qual a menor aceitabilidade pela farinha de pupunha refletiu em reduções no consumo de matéria seca, em todas as formas de expressão, em relação às demais fontes energéticas avaliadas.

Ao analisar as médias do consumo de matéria orgânica e carboidratos totais, as diferenças entre as dietas foram evidenciadas, verificando-se que os animais alimentados com as dietas com milho, farelo de trigo, sorgo e farelo de algaroba foram

semelhantes, porém, apresentaram consumos superiores à farinha de pupunha, quando expressos em g/kg PC, refletindo um comportamento similar aos resultados obtidos para matéria seca (Tabela 4).

Tabela 4. Média de quadrados mínimos para os consumos de matéria seca e nutrientes em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado

Item	Fontes energéticas da dieta					EPM	P
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha		
	Consumo g/dia						
MS	1010,0^{b}	1140,0^{ab}	1300,0^{a}	1200,0^{a}	420,0^{c}	0, 0850	<0, 0001
NDT	670,0^{b}	690,0^{b}	860,0^{a}	750,0^{ab}	270,0^{c}	0, 0547	<0, 0001
	Consumo g/kg PC						
MS	37,5^{a}	38,2^{a}	41,7^{a}	39,2^{a}	15,7^{b}	0, 2164	<0, 0001
MO	35,3^{a}	35,4^{a}	39,4^{a}	36,1^{a}	14,7^{b}	0, 2027	<0, 0001
MM	2,2^{b}	2,9^{a}	2,9^{b}	3,0^{a}	1,0^{c}	0, 0163	<0, 0001
PB	5,9^{c}	5,7^{c}	6,7^{cb}	7,6^{ab}	2,5^{d}	0, 0430	<0, 0001
EE	1,3^{b}	0,9^{bc}	1,7^{ab}	0,7^{c}	0,5^{c}	0, 0118	<0, 0070
FDN_{cp}	17,1^{b}	21,2^{a}	17,6^{b}	17,5^{b}	7,3^{c}	0, 1010	<0, 0001
CT	28,0^{a}	28,7^{a}	31,1^{a}	27,7^{a}	11,6^{b}	0, 1586	<0, 0001
CNF_{cp}	11,0^{a}	7,5^{b}	13,5^{a}	10,2^{a}	4,3^{c}	0, 0782	<0, 0001
NDT	25,0^{b}	23,1^{b}	27,7^{ab}	24,5^{ab}	10,1^{c}	0, 1432	<0, 0001
	Consumo g/kg $PC^{0,75}$						
MS	85,3^{b}	89,2^{ab}	98,3^{a}	91,7^{ab}	35,8^{c}	0, 5324	<0, 0001
NDT	56,7^{b}	54,0^{b}	65,0^{ab}	57,3^{ab}	23,1^{c}	0, 3484	<0, 0001
	Consumo de energia metabolizável						
Mcal/dia	2,4^{c}	2,5^{c}	3,1^{ab}	2,7^{bc}	1,0^{d}	0, 1971	<0, 0001
Mcal/PC	9,0^{b}	8,4^{b}	10,0^{ab}	8,8^{b}	3,7^{c}	0, 5171	<0, 0001
Mcal/$PC^{0,75}$	20,5^{b}	19,5^{b}	23,5^{ab}	20,7^{ab}	8,4^{c}	1, 2596	<0, 0001

Médias seguidas por letras semelhantes na mesma linha não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey;

O consumo de matéria mineral, em g/kg de peso corporal, diferiu entre as fontes energéticas estudadas, sendo que as dietas contendo farelo de trigo e farelo de algaroba apresentaram médias superiores às demais (Tabela 4). Os resultados obtidos para essa variável já eram esperados, uma vez que as dietas que continham maior teor dessa fração analítica (Tabela 3) foram as mesmas que proporcionaram maiores consumos.

O consumo de proteína bruta diferiu entre as diferentes fontes energéticas na dieta (Tabela 4). Os animais que receberam a dieta contendo farelo de algaroba ingeriram maiores quantidades de proteína bruta, em resposta da maior ingestão total de

matéria seca e possivelmente em virtude da variação dos teores médios de proteína bruta nas dietas utilizadas (Tabela 3). O consumo médio de proteína bruta para dieta contendo farelo de algaroba (240 g/dia) foi superior ao recomendado pelo AFRC (1993), de 158 e 164 g PB/dia, respectivamente, para ovinos de 20 e 30 kg de massa corporal.

Os maiores consumos de extrato etéreo, quando expresso em g/kg de peso corporal, foram observados nos animais alimentados com a dieta contendo sorgo como fonte energética, quando comparado com aqueles consumindo dieta contendo farinha de pupunha (Tabela 4). Apesar da farinha de pupunha possuir maior concentração deste componente nutricional (Tabela 3), esses resultados podem ser explicados em resposta à maior ingestão total de matéria seca associada ao aumento proporcional da concentração de EE ingerido pelos animais alimentados com a dieta contendo sorgo, permitindo que os mesmos consumissem teores mais elevados desse nutriente, o que sobrepôs o efeito de maior concentração de EE da farinha de pupunha na dieta experimental.

Ao analisar o consumo de fibra em detergente neutro isenta de cinza e proteína, a diferença entre dietas foi evidenciada, verificando-se que os animais alimentados com a dieta contendo farelo de trigo como fonte energética apresentaram consumos superiores à farinha de pupunha, quando expresso em g/kg de peso corporal (Tabela 4). Parte dessa diferença deve-se à composição da dieta, na qual o teor de FDN_{cp} foi 32,04% menor na dieta contendo farinha de pupunha em relação à dieta contendo farelo de trigo (Tabela 3). Além disso, a hemicelulose foi 39,07% menor para dieta contendo farinha de pupunha, quando comparado com a dieta contendo farelo de trigo como fonte energética (Tabela 3). Assim, estes resultados demonstram que os animais alimentados com dieta contendo farinha de pupunha como fonte energética ingeriram fibra em quantidade e qualidade inferior, indicando serem estes os principais fatores que comprometeram o consumo de MS e FDN_{cp} (Tabela 4). Para compensar essa menor qualidade de fibra proveniente da fonte energética concentrada, houve o aumento do consumo da fibra proveniente do volumoso, dessa forma, este fato pode ser explicado pelo aumento de 8,4% na proporção de FDNcp ingerida pelos cordeiros (Tabela 4).

O consumo de carboidratos não fibrosos diferiu entre as dietas estudadas. Os animais alimentados com as dietas contendo milho, sorgo e farelo de algaroba como fontes energéticas apresentaram consumos superiores à farinha de pupunha, quando expressos em g/kg de peso corporal. Analisando a composição das dietas, verificou-se

que a farinha de pupunha é a principal fonte de carboidratos não fibrosos das dietas experimentais (Tabela 3). Dessa forma, esperava que essa dieta proporcionasse maiores consumo de CNF entre as fontes energéticas estudadas, entretanto, o menor consumo dessa fração analítica na dieta contendo farinha de pupunha está diretamente relacionado ao menor consumo de matéria seca pelos animais, além da seleção realizada pelos cordeiros na ingestão voluntária de farinha de pupunha, que proporcionou uma redução de 6,2% do teor de CNF na MS consumida (Tabela 4).

Igualmente ao consumo de matéria seca, houve maior ($P<0,05$) ingestão diária de nutrientes digestíveis totais para a dieta contendo sorgo, em todas as formas de expressão. Esse comportamento pode ser explicado pelo efeito no consumo de matéria seca e pelo teor de nutrientes digestíveis totais observados nas dietas experimentais e que não é consistente com o teor energético estimado do sorgo, que foi inferior ao da farinha de pupunha (Tabela 3).

Da mesma forma, o consumo de energia metabolizável (Mcal/dia; Mcal/PC e Mcal/PC ^{0,75}) também diferiu entre as diferentes fontes energéticas testadas, sendo observado maior consumo para a dieta contendo sorgo como fonte energética. Contudo, o NRC (2007) preconiza o consumo diário de energia metabolizável de 2,39 e 2,86 Mcal/dia para cordeiros com 20 e 30 kg de peso corporal e ganho de peso diário de 200 g/dia em regime de confinamento, sendo assim, o consumo de energia metabolizável obtido neste experimento foi compatível, com exceção para dieta contendo farinha de pupunha como fonte energética.

Vale ressaltar que o valor do NDT estimado pelo modelo do NRC (2001) somente foi superestimado para a dieta contendo farinha de pupunha, quando comparado com o NDT obtido pelo ensaio de digestibilidade (Tabelas 3 e 5). Assim, o modelo do NRC (2001) estimou adequadamente os valores de NDT para as outras dietas.

Os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, PB, CNF e NDT não foram influenciados ($P>0,05$) pelas diferentes fontes energéticas na dieta, registrando-se, respectivamente, valores médios de 65,47; 64,48; 73,58; 81,67 e 62,67%. Apesar de ter verificado diferença significativa entre as dietas para o consumo de MS (Tabela 4), não foram observadas, neste estudo, incremento na digestibilidade desses nutrientes. A similaridade na digestibilidade desses parâmetros, possivelmente, se deve, em parte, ao fato de outros inúmeros fatores que influenciam a digestibilidade – proporção e

degradabilidade da parede celular, composição do alimento e da dieta, preparo dos alimentos, relação proteína: energia, taxa de degradabilidade e fatores inerentes ao animal (MACDONALD et al., 1993; VAN SOEST, 1994; ØRSKOV, 2000).

A digestibilidade aparente do extrato etéreo, para as fontes energéticas contendo sorgo e farinha de pupunha, foi semelhante, porém, apresentou médias superiores ao farelo de trigo (Tabela 5). A menor digestibilidade observada para esta fonte energética pode ser justificada pelo teor de extrato etéreo presente na dieta (Tabela 3), que proporcionou reduções no consumo (Tabela 4) e, consequentemente, coeficiente de digestilidade inferior (Tabela 5). Além disso, acredita-se que pelo fato da dieta conter baixa concentração de EE, a síntese de lipídeos no rúmen foi maior, o que possivelmente elevou o fluxo intestinal em relação ao seu consumo, refletindo em redução do coeficiente de digestibilidade desse componente.

Tabela 5. Média de quadrados mínimos para os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado

Item	Fontes energéticas da dieta					EPM	P
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo deAlgaroba	Farinha de Pupunha		
MS	67,8	62,2	68,2	65,6	63,4	0, 9680	0, 2288
MO	67,2	61,9	67,3	64,1	63,3	0, 9851	0, 3092
PB	68,8	75,8	71,5	83,4	68,3	2, 6886	0, 3981
EE	84,2[ab]	78,2[b]	87,3[a]	84,8[ab]	87,7[a]	1, 1961	0, 0198
FDN_{CP}	55,3[a]	42,7[b]	52,7[a]	52,7[a]	50,3[a]	1, 3515	0, 0139
CT	65,9[a]	59,6[bc]	65,6[a]	58,8[bc]	61,8[ac]	1, 0172	0, 0283
CNF	82,1	78,6	81,6	86,3	79,9	1, 7174	0, 6920
NDT	64,9	59,5	65,3	62,9	60,7	1, 0367	0, 3067

Médias seguidas por letras semelhantes na mesma linha não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

O coeficiente de digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro isenta de cinza e proteína diferiu entre as dietas experimentais, e o farelo de trigo foi a única fonte energética na dieta que diferiu das demais. Analisando os fatores que interferem na digestibilidade, infere-se que, na dieta contendo farelo de trigo, houve variação na composição da dieta, quanto às proporções de FDNcp (Tabela 3). A maior participação de frações fibrosas no conteúdo de carboidratos tende a reduzir a digestibilidade da dieta (Tabela 5).

As diferentes fontes energéticas na dieta alteraram (P<0,05) o ganho de peso médio diário dos cordeiros (Tabela 6). Os animais alimentados com as dietas contendo milho, farelo de trigo, sorgo e farelo de algaroba foram semelhantes, porém, apresentaram ganhos (g/dia) superiores à farinha de pupunha. Estes resultados podem ser justificados pela semelhança da ingestão total de matéria seca,quando corrigido para o peso corporal dos animais (Tabela 4), que proporcionaram melhor desempenho dos animais em função de uma maior disponibilidade de nutrientes para o metabolismo, tomando por base que, segundo Mertens (1994), 60 a 90% das diferenças no desempenho animal são função do consumo.

Vale salientar que, entre os fatores envolvidos na regulação do consumo, estão a ingestão de energia pelo animal e a concentração de FDN da dieta – esta é considerada limitante em função de sua lenta degradação e baixa taxa de passagem pelo rúmen. É provável que os menores consumos desses nutrientes, associada à ingestão de fibra de baixa qualidade, contribuíram para o baixo desempenho observado de cordeiros alimentados com a dieta contendo farinha de pupunha como fonte energética, conforme relatado anteriormente.

Tabela 6. Média de quadrados mínimos para variação do peso corporal de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado

Item	Fontes energéticas da dieta					EPM	P
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo deAlgaroba	Farinha de Pupunha		
g/dia	263,4[a]	167,0[a]	134,4	194,8[a]	-168,8[b]	0, 0357	0, 0001
kg/período	5,0[a]	3,2[a]	2,6[a]	3,7[a]	-3,2[b]	0, 6793	0, 0001

Médias seguidas por letras semelhantes na mesma linha não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey;

Verificou-se efeito das diferentes fontes energéticas testadas para as excreções de uréia e nitrogênio ureico na urina (Tabela 7). A dieta contendo farelo de algaroba como fonte energética apresentou médias de excreções superiores às demais dietas, quando expresso em g/dia, mg/kg PC e mmol/kg $PC^{0,75}$.É consenso que há correlação positiva entre as concentrações de ureia plasmática e urinária, bem como entre a concentração de ureia na urina com a ingestão de N (VALADARES et al. 1999; SANTOS et al. 2014). Sendo assim, os resultados obtidos para essas variáveis são

condizentes com a maior ingestão de proteína bruta (Tabela 4) pelos animais alimentados com a dieta contendo farelo de algaroba como fonte energética.

Provavelmente, ocorreu excesso de N circulante pelos animais que receberam a dieta contendo farelo de algaroba em virtude da variação dos teores médios de proteína bruta nas dietas utilizadas (Tabela 3), ocasionando maior síntese de ureia pelo fígado, e posterior excreção urinária. Associando-se esta variável à ingestão de N, observou-se um quadro de perda de N, o que não é desejável nos sistemas de produção. Segundo Cavalcante et al. (2006), maior aproveitamento dos compostos nitrogenados ocorre quando se utilizam dietas com menores teores proteicos, pois o aumento excessivo da PB da dieta pode ocasionar excesso na liberação de ureia, via urina, constituindo desperdício de proteína.

Tabela 7. Média de quadrados mínimos para excreções diárias de ureia e nitrogênio ureico na urina, concentração de nitrogênio no plasma, excreção fracional e *clearance* de ureia em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado

Item	Fontes energéticas da dieta					EPM	P
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha		
	Ureia na urina						
g/dia	25,97^{b}	26,18^{b}	29,04^{b}	43,55^{a}	11,13^{c}	3, 0987	0, 0007
mg/kg PC	975,16^{b}	893,07^{b}	898,77^{b}	1443,62^{a}	415,23^{c}	90, 3034	0, 0007
mmol/kg PC^{0,75}	36,83^{b}	34,53^{b}	35,55^{b}	56,11^{a}	15,72^{c}	3, 5737	0, 0006
	Nitrogênio ureico na urina						
g/dia	12,12^{b}	12,22^{b}	13,55^{b}	20,32^{a}	5,20^{c}	1, 4461	0, 0007
mg/kg PC	455,11^{b}	416,80^{b}	419,46^{b}	673,74^{a}	193,79^{c}	42, 1445	0, 0007
mmol/kg PC^{0,75}	17,19^{b}	16,11^{b}	16,60^{b}	26,18^{a}	7,34^{c}	1, 6677	0, 0006
	Nitrogênio ureico no plasma						
mg/dl	28,27^{ab}	35,42^{a}	30,63^{ab}	33,36^{a}	20,93^{b}	1, 9397	0, 0251
	Excreção fracional de ureia						
%	23,71^{ab}	20,14^{b}	22,49^{b}	32,11^{a}	17,83^{b}	1, 8415	0, 0444
	Clearance de ureia						
ml/min/kg PC	0,53^{b}	0,43^{bc}	0,53^{b}	0,74^{ab}	0,27^{c}	0, 0538	0, 0080

Médias seguidas por letras semelhantes na mesma linha não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey;

Com relação aos níveis de nitrogênio ureico sérico, os teores encontrados em ovinos tendem a ser sempre mais altos que dos bovinos. Nos bovinos, estes teores variam de 8,4 a 27,2 mg/dL (BUTLER et al., 1996). As dietas experimentais afetaram

as concentrações de nitrogênio ureico no plasma (P<0,05), sendo que as fontes energéticas farelo de algaroba e farelo de trigo apresentaram médias superiores às demais (Tabela 7). Este resultado, provavelmente, foi obtido pelo fato da ureia no sangue ser diretamente relacionada à quantidade de proteína e à relação proteína: energia da ração, respectivamente (Tabela 3).

A elevada concentração de nitrogênio ureico plasmático de cordeiros alimentados com a dieta contendo farelo de trigo como fonte energética pode ser atribuída à menor taxa de degradação dos carboidratos no rúmen, que promoveu, possivelmente, desequilíbrio na sincronização da utilização de proteína e energia, uma vez que a mesma apresentou menor teor de CNF entre as dietas utilizadas (Tabela 3), o que pode ter reduzido a eficiência de utilização de nitrogênio pelos microrganismos.

O nitrogênio ureico plasmático não é bom indicador de consumo de nitrogênio, mas pode ser bom indicador do nitrogênio não utilizado (ALVES et al. 2012). Isso reforça a hipótese de que os animais alimentados com as dietas contendo farelo de algaroba e farelo de trigo não estavam sendo capazes de utilizar parte do nitrogênio consumido, uma vez que os valores de nitrogênio ureico sérico foram os mais altos (maiores que 30 mg/dL; Tabela 7). Dessa forma, é importante ressaltar que a excreção de ureia representa elevado custo biológico e desvio de energia para manutenção das concentrações corporais de nitrogênio em níveis não tóxicos aos animais. A conversão da amônia em ureia custa ao animal 12 kcal/g de nitrogênio (VAN SOEST, 1994).

Houve efeito das fontes energéticas estudadas para a excreção fracional de ureia (Tabela 7). Assim, observou-se que a dieta contendo farelo de algaroba como fonte energética apresentou (P<0,05) menor porcentagem de reabsorção de ureia (67,89%) em relação às demais, sendo possível pressupor que as dietas experimentais variaram quanto ao fornecimento de proteína degradável aos animais. Esses resultados são consistentes com Valadares et al. (1997), os quais relataram que a excreção fracional de ureia é variável, possibilitando maior conservação de ureia a baixas ingestões e maior excreção a altas ingestões de nitrogênio.

Os resultados obtidos para nitrogênio ingerido e excretado, na urina e nas fezes, bem como o balanço de nitrogênio encontram-se na Tabela 8. Apesar das dietas experimentais fornecidas terem sido formuladas para serem isonitrogenadas, observou-se diferença significativa no processo seletivo de ingestão dos compostos nitrogenados entre as dietas com as fontes energéticas avaliadas, sendo que os animais alimentados

com a dieta contendo farelo de algaroba ingeriram maior quantidade de nitrogênio em relação às demais (Tabela 8). Geralmente, o que pode provocar variação na ingestão de N é a concentração do mesmo nas dietas (CAVALCANTE et al., 2006) ou consumo diferenciado de matéria seca (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2004), portanto, o fato de ter ocorrido alterações nos teores médios de PB nas dietas utilizadas (Tabela 3) e no consumo de MS (Tabela 4) justifica a ocorrência desse efeito neste estudo.

Tabela 8. Média de quadrados mínimos do balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado

Item	Fontes energéticas da dieta					EPM	P
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha		
	Nitrogênio Ingerido						
(g/dia)	29,90^{b}	27,61^{b}	33,53^{ab}	37,63^{a}	11,61^{c}	2, 3987	0, 0002
(g/kg PC)	1,13^{a}	0,92^{b}	1,07^{ab}	1,22^{a}	0,50^{c}	0, 0602	<0, 0001
(g/kg PC^{0,}	2,56^{bc}	2,15^{c}	2,52^{bc}	2,86^{ab}	1,14^{d}	0, 1475	<0, 0001
	Nitrogênio na urina						
(g/dia)	11,83^{b}	12,46^{b}	12,93^{b}	14,27^{a}	7,33^{c}	1, 0078	0, 0006
(g/kg PC)	0,51^{b}	0,41^{b}	0,41^{b}	0,49^{a}	0,25^{c}	0, 0303	0, 0021
(g/kg PC^{0,}	1,17^{b}	0,96^{b}	0,98^{b}	1,17^{a}	0,55^{c}	0, 0717	0, 0016
	Nitrogênio nas fezes						
(g/dia)	7,47^{b}	6,45^{b}	9,61^{a}	6,15^{b}	6,22^{b}	0, 6638	<0, 0001
(g/kg PC)	0,28^{a}	0,22^{b}	0,30^{a}	0,20^{b}	0,18^{b}	0, 0178	<0, 0001
(g/kg PC^{0,}	0,63^{a}	0,51^{b}	0,72^{a}	0,47^{b}	0,49^{b}	0, 0437	<0, 0001
	Nitrogênio digerido						
(g/dia)	22,44^{b}	21,25^{b}	23,92^{b}	31,47^{a}	5,39^{c}	1, 9103	0, 0009
% N	74,79^{b}	75,83^{b}	71,52^{b}	83,42^{a}	46,42^{c}	1, 3662	0, 0096
	Nitrogênio retido						
(g/dia)	8,61^{b}	8,81^{b}	11,00^{b}	17,21^{ab}	-1,94^{c}	1, 4768	0, 0200
% N ingerido	28,55^{b}	30,94^{b}	32,11^{b}	42,27^{a}	-16,71^{c}	3, 0450	0, 0273
% N digerido	36,89^{b}	40,66^{b}	44,79^{b}	50,37^{a}	-36,00^{c}	3, 2360	0, 0167

Médias seguidas por letras semelhantes na mesma linha não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Quando não há sincronização na utilização de nitrogênio e energia pelos microrganismos para síntese de proteína microbiana no rúmen, devido ao excesso de proteína bruta contido na dieta, o nitrogênio amoniacal não utilizado é absorvido pela parede ruminal, resultando em maior síntese de ureia no fígado e, consequentemente,

aumento na excreção via urina. Dessa forma, observou-se que a dieta contendo farelo de algaroba com fonte energética apresentou (P<0,05) perda mais elevada de nitrogênio através da urina em relação às demais dietas (Tabela 8).

Verificou-se que a excreção de nitrogênio fecal foi maior (P<0,05) nos animais alimentados com a dieta contendo sorgo como fonte energética em comparação às demais. Possivelmente, este fato foi evidenciado devido ao significativo consumo de nitrogênio (Tabela 4) associado à quantidade de proteína insolúvel em detergente ácido, que foi proporcionado por essa dieta (Tabela 3). A proteína insolúvel em detergente ácido representa a proteína que está ligada à fibra, principalmente, a lignina que não é aproveitada em nenhum compartimento do trato gastrointestinal, sendo, assim, perdida via fecal. Além disso, segundo Kozloski (2002), a quantidade de nitrogênio excretada pelas fezes aumenta com a atividade fermentativa no intestino grosso, devido ao maior aporte de nitrogênio de origem microbiana nas fezes, o que ocorre particularmente quando as dietas são ricas em grãos de cereais, como milho e sorgo.

Em relação ao nitrogênio digerido (g/dia e % do ingerido) observaram-se diferenças (P<0,05) entre as fontes energéticas avaliadas (Tabela 8), sendo que a dieta contendo farelo de algaroba apresentou maior valor de nitrogênio absorvido. Vale ressaltar que o nitrogênio digerido é um parâmetro estimado através da diferença entre o nitrogênio consumido e excretado nas fezes, sendo assim, pode-se avaliar a qualidade das proteínas de uma dieta que é utilizada pelo corpo do animal (PEREIRA et al. 2014b).

O balanço de nitrogênio constitui importante ferramenta para determinar a eficiência de utilização do nitrogênio pelos ruminantes e suas perdas para o ambiente (GENTIL et al., 2007). O fato de ter ocorrido variação nas quantidades de N ingeridas e excretadas determinou a diferença estatística para o nitrogênio retido (g/dia, % ingerido e % digerido) entre as fontes energéticas avaliadas (Tabela 8). A utilização da dieta contendo farinha de pupunha como fonte energética proporcionou balanço de nitrogênio negativo. Este resultado demonstra que o consumo de nitrogênio dos animais alimentados com esta dieta não foi suficiente para atender às exigências de mantença e síntese de tecidos, provocando mobilização das reservas corporais. É importante inferir que o resultado obtido para esta variável ratifica a afirmação acima, com valores negativos para variação do peso corporal dos cordeiros alimentados com a farinha de pupunha como fonte energética da dieta (Tabela 6).

A partir das amostras de coleta total de urina, durante um período de 24 horas, foi mensurado o volume urinário total por animal e, estatisticamente, a excreção urinária não diferiu entre as fontes energéticas estudadas ($\hat{Y}$ = 1,58L; P>0,05).

Tabela 9. Volume urinário, excreção de derivados de purinas, purinas totais e absorvidas, derivados de purinas (% PT), síntese de proteína microbiana (PBM) e eficiência microbiana em cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes fontes energéticas no concentrado

Item	Fontes energéticas da dieta					EPM	P
	Milho	Farelo de Trigo	Sorgo	Farelo de Algaroba	Farinha de Pupunha		
	Volume Urinário						
L/dia	1,66	1,45	1,57	1,81	1,42	0, 0950	0, 3794
	Derivados de Purinas (mmol/dia)						
Alantoína	6,36^{ab}	7,15^{a}	7,17^{a}	9,85^{a}	2,51^{b}	0, 9254	0, 0415
Ácido úrico	0,97^{a}	0,98^{a}	1,31^{a}	1,02^{a}	0,52^{b}	0, 1554	0, 0098
X-H	3,49^{b}	6,00^{a}	4,60^{b}	4,11^{b}	1,26^{c}	0, 3869	0, 0001
	Derivados de purinas Totais						
mmol/dia	10,81^{b}	14,14^{a}	13,08^{a}	14,98^{a}	4,29^{c}	1, 1994	0, 0007
mol/kg PC	0,41^{a}	0,48^{a}	0,41^{a}	0,49^{a}	0,16^{b}	0, 0349	0, 0010
mol/kg PC^{0,75}	0,93^{a}	1,11^{a}	0,98^{a}	1,15^{a}	0,37^{b}	0, 0828	0, 0009
	Purinas microbianas (mmol/dia)						
Absorvidas	12,70^{b}	16,71^{a}	15,41^{a}	17,69^{a}	5,38^{c}	1, 4086	0, 0007
	Derivados de Purinas (% PT)						
Alantoína	56,66	50,46	56,92	62,40	52,14	3, 0786	0, 4197
Ácido úrico	8,60	6,42	10,75	6,42	14,59	2, 0057	0, 6533
X-H	34,74	43,12	42,33	31,18	33,27	3, 2447	0, 5213
	Produção microbiana (g/dia)						
N microbiano	9,23^{b}	12,15^{ab}	11,20^{ab}	12,86^{a}	3,92^{c}	1, 0240	0, 0007
PB microbiano	57,71^{b}	75,92^{ab}	70,02^{ab}	80,38^{a}	24,47^{c}	6, 4010	0, 0007
	Eficiência microbiana						
g PB/kg NDT	97,80^{a}	100,92^{a}	101,80^{a}	119,96^{a}	70,92^{b}	2, 0057	0, 0433

X-H: xantina-hipoxantina; Médias seguidas por letras semelhantes na mesma linha não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey;

As excreções de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina, na urina, foram influenciadas pelas diferentes fontes energéticas na dieta (Tabela 9). Segundo Yu et al. (2002), os principais fatores que podem afetar as excreções de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina são as fontes de compostos nitrogenados dietéticos e energia, o peso vivo dos animas, aditivos alimentares e espécie animal. Essa informação contribui

para justificar os resultados obtidos, pois o efeito sobre a excreção dos derivados de purina pode estar relacionada à utilização das diferentes fontes energéticas alimentares utilizadas no experimento.

Os valores percentuais médios de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina, em função das purinas totais, foram semelhantes entre as dietas e apresentaram média de 55,7; 9,4 e 36,9%, respectivamente (Tabela 9). Valores diferentes aos citados por Chen & Gomes (1990) reportaram em ovinos a contribuição relativa de 55,0; 33,0 e 14,0%, para os respectivos derivados de purina. Enquanto que em pesquisa realizada por Santos (2015) com cordeiros, a excreção de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina na urina, corresponderam a 64,3; 9,8; e 25,6% do total de purinas totais. Diante da interpretação dos resultados, pressupõe-se que as amplitudes de excreção destes metabólicos na urina em relação aos derivados de purinas totais ficam condicionadas ao estádio fisiológico do animal e das dietas experimentais, o que pode justificar as diferenças entre os experimentos.

Os valores das purinas microbianas absorvidas seguiram o mesmo comportamento observado para as excreções urinárias de derivados de purinas totais, ou seja, foram influenciadas pelas dietas experimentais. As fontes energéticas contendo farelo de trigo, sorgo e farelo de algaroba foram semelhantes, porém, apresentaram médias superiores à farinha de pupunha. A menor excreção dos derivados de purinas totais e bases purinas absorvidos para esta fonte energética pode ser atribuída à menor ingestão de matéria seca e energia, que foi proporcionada por essa dieta (Tabela 4), e provavelmente essas diferenças são refletidas sobre a síntese microbiana no rúmen, devido à alta correlação entre os parâmetros.

A síntese de proteína microbiana também foi afetada pelas fontes energéticas estudadas (Tabela 9), apresentando diferenças entre as médias das dietas contendo farelo de algaroba e farinha de pupunha, com superioridade de 69,9% para a dieta contendo farelo de algaroba como fonte energética. Este resultado pode estar relacionado com as menores taxas de passagem da digesta para os animais alimentados com a dieta contendo farinha de pupunha, devido ao menor consumo de matéria seca (Tabela 4), que pode ter disponibilizado menor quantidade de substrato no rúmen para fermentação e, com isso, a síntese microbiana foi reduzida. Salienta-se que o aumento do consumo de matéria seca resulta em maior taxa de passagem ruminal e maior disponibilidade de substratos para os microrganismos, o que resulta, normalmente, em

efeito positivo sobre produção microbiana e a eficiência microbiana (SANTOS & PEDROSO, 2011). Por outro lado, um fator importante é a sincronização de carboidratos fermentescíveis e de proteína para aumentar a taxa de crescimento microbiano. Era esperado que o milho, fonte energética, com alta proporção de CNF, apresentaria a melhor resposta para síntese microbiana no rúmen, no entanto, o milho utilizado neste estudo apresentou quantidades elevadas de FDN, o que pode ter comprometido a disponibilização de carboidratos solúveis, suficiente para um melhor crescimento microbiano.

As estimativas de síntese de compostos nitrogenados microbianos, observados neste estudo de 9,23; 12,15; 11,20; 12,86 e 3,92 g/dia, respectivamente, nas dietas contendo milho, farelo de trigo, sorgo, farelo de algaroba e farinha de pupunha foram próximos, com exceção para farinha de pupunha, aos relatados por Argôlo et al. (2010), que observaram valores de 13,74 a 9,86 g/dia em cabras alimentadas com níveis de substituição do milho pelo farelo de algaroba na dieta. Estes autores observaram que a adição do farelo de algaroba no concentrado influencia negativamente o fluxo de nitrogênio microbiano e a eficiência de síntese de proteína microbiana, o que não se aplica neste estudo. Vale ressaltar que o farelo de algaroba utilizado neste estudo foi obtido por processo térmico, o que pode estar relacionado com a decomposição dos alcaloides. Uma vez presentes, estes compostos atuam na redução da população microbiana ruminal (SANTOS et al., 2013)

Os resultados de eficiência microbiana (em g PB/kg NDT), observados neste experimento, foram afetados significativamente pelas diferentes fontes energéticas na dieta. De modo geral, a dieta contendo farinha de pupunha como fonte energética não favoreceu a produção e a eficiência de síntese microbiana. Com base nos resultados verificados, pressupõe que os animais alimentados com dieta contendo farinha de pupunha apresentaram menores quantidades de substratos fermentados, possivelmente, decorrente da diminuição da ingestão de energia e proteína das dietas (Tabela 4), que fez com que a síntese de proteína microbiana e a eficiência de síntese de proteína microbiana reduzissem com sua utilização na dieta.

CONCLUSÕES

A farinha de pupunha como fonte energética da dieta reduz o consumo de matéria seca, energia e proteína e interfere negativamente no balanço de nitrogênio e desempenho de cordeiros em confinamento.

O sorgo e os farelos de trigo e de algaroba podem substituir o milho como fontes energéticas em dietas para cordeiros em confinamento.

REFERÊNCIAS

AFRC. Energy and protein requirement of ruminants. **Anadvisory manual prepared by AFRC technical committee on response to nutrients**.CAB International, Wallingford, UK, p.5-55, 1993.

ALVES, E.M.Farelo da vagem de algaroba associado a níveis de ureia na alimentação de ovinos: balanço de nitrogênio, N-ureico no plasma e parâmetros ruminais. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**.v. 34, n. 3, p. 287-295, July-Sept., 2012.

ALVES, E.M.Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com farelo davagem de algaroba associado a níveis de uréia.**Acta Scientiarum. Animal Sciences**.v. 32, n. 4, p. 439-445, 2010.

ARGÔLO, L.S.; PEREIRA, M.L.A.; DIAS, J.C.T. et al. Farelo da vagem de algaroba em dietas para cabras lactantes: parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.3, p.541-548, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.

BERCHIELLI, T.T.; VEGA-GARCIA, A.; OLIVEIRA, S.G. **Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudos de nutrição.** In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.). NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, Jaboticabal – SP: FUNEP. 2. ed. p.415-436, 2011.

BUTLER, W.R.; CALAMAN, J.J.; BEAM, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**. v. 74, p. 858-865, 1996.

CAVALCANTE, M.A.B. et al. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 203-210, 2006.

CHEN, X.B.; ØRSKOV, E.R.; HOVELL, F.D.DeB. Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**. v.63, p.121-129. 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. Bucksburnd: Rowett Research Institute; **International Feed Resources Unit**, 1992, 21p. (Occasional publication).

CHEN, X.B.; JAYASURIYA, M.C.N.; MAKKAR, H.P.S. Measurement and application of purine derivatives: creatinine ratio in spot urine samples of ruminants. In: Makkar, H.P.S., Chen, X.B. (Eds.), Estimation of Microbial Protein Supply in Ruminants Using Urinary Purine Derivatives. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, p.167–179, 2004.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** - INCT - Ciência Animal. Visconde do Rio Branco: Suprema, p.214. 2012.

GENTIL, R.S.; PIRES, A.V.; SUSIN, I. et al. Digestibilidade aparente de dietas contendo silagem de cana de açúcar tratada com aditivo químico ou microbiano para cordeiros. **Acta Scientiarum. Animal Science,** v.29, n.1, p.63-69, 2007.

HALL, M.B. Challenges with non-fiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**. v.81, n.12, p.3226-3232, 2003.

Lage, J.F., Paulino, P.V.R., Pereira, L.G.R.,Valadares Filho, S.C., Oliveira, A.S., Detmann, E., Souza, N.K.P., Moutinho Lima, J.K. Glicerina bruta na dietade cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 45, p.1012-1020, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE, 2012. Disponível:<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2241&id_pagina=1>. Acesso em: 02 de outubro de 2013.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, p.140, 2002.

LIZIEIRE, R.S.; SILVA, J.F C.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; CAMPOS, O.F. Níveis crescentes de proteína degradada no rúmen de cabras. I. Efeitos sobre consumo, digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.6, p.552-561, 1990.

MACDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. **Animal nutrition**. 4.ed. Zaragoza: Acribia, p.442, 1993.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, G.C. (Ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. Madison: **American Society Agronomy**, p.450-493, 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7 ed. Washington: National Academy Press, p.450, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Small Ruminants**: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academies Press, 2007.

OLIVEIRA JUNIOR, R.C.; PIRES, A.V.; FERNANDES, J.J.R.; SUSIN, I.; SANTOS, F.A.P.; ARAÚJO, R.C. Substituição total do farelo de soja por ureia ou amireia, em dietas com alto teor de concentrado, sobre a amônia ruminal, os parâmetros sangüíneos e o metabolismo do nitrogênio em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.738-748, 2004.

ØRSKOV, E.R. New concepts of feed evaluation for ruminants with emphasis on roughages and feed intake. Asian-Australasian. **Journal of Animal Science**, v.13, p.128-136, 2000.

PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. **Metabolismo de lipídeos na alimentação de ruminantes**. In: Nutrição de ruminantes. Editores: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Jaboticabal: Funep,p. 299-322, 2011.

QUARANTA, A.; D‟ ALESSANDRO, A.G.; FRATE, A.; COLELLA, G.E.; MARTEMUCCI, G.; CASAMASSINA, D. Behavioural response towards twelve feedstuffs in lambs. **Small Ruminant Research**, n.64, p. 60–66, 2006.

PEREIRA, T.C.J; PEREIRA, M.L.A.; ALMEIDA, P.J.P.; CARVALHO, G.G.P.; SILVA, F.F.; OLIVEIRA, H.G and SANTOS, A.B. Substitution of corn for mesquite pod meal in diets for lambs. **Italian Journal of Animal Science.**v. 13, p. 473-478, 2014a.

PEREIRA, T.C.J; PEREIRA, M.L.A.;SANTOS, A.B.;CARVALHO, G.G.P.; SILVA, F.F.; OLIVEIRA, H.G.; ALMEIDA, P.J.P.; MOREIRA, J.V. Farelo de vagem de algaroba em dietas de cordeiros. **Revista Eletrônica Nutritime**. v. 11, n.04, p.3525-3537,2014b.

RIBASKI, J; DRUMOND, M. A; OLIVEIRA, V.R.; NASCIMENTO, C.E.S. Algaroba (*Prosopis juliflora*): Árvore de Uso Múltiplo para a Região Semiárida Brasileira. Colombo, PR, 2009. **(COMUNICADO TÉCNICO, 240).**

RIBEIRO, L.S.O. **Farinha de pupunha na alimentação de caprinos confinados.** 126p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2014.

SANTOS, A.B. **Farinha de pupunha na alimentação de cordeiros confinados.** 109p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2015.

SANTOS, E.T.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, C.F.P.G. et al. Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on in vitro ruminal digestion, **International Journal of Molecular Science**, 2013.

SAS INSTITUTE. **Statistical Analysis System. User's guide**. Cary: SAS Institute, 2006.

SILVA, J.F.C. **Mecanismos reguladores de consumo**. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.). NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, Jaboticabal – SP: FUNEP. 2. ed. p. 61-114. 2011.

SANTOS, A.B.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, H.G.O.; PEDREIRA, M.S.; CARVALHO, G. G. P.; RIBEIRO, L. S. O.; ALMEIDA, P. J. P.; PEREIRA, T. C. J. and MOREIRA, J.V. Nitrogen metabolism in lactating goats fed with diets containing different protein sources. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**. v. 27, n. 5: 658-666, May 2014.

SANTOS, F.A.P.; PEDROSO, A.M. **Metabolismo de proteínas**. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.). NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, Jaboticabal – SP: FUNEP. 2. ed. p. 265-292, 2011.

SILVA, D. J.; QUEIROZ,A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 235, 2002.

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

SNIFFEN, C.J.; O´CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

VALADARES, R.F.D., GONÇALVES, L.C., SAMPAIO, I.B. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos 4. Concentrações de uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.; VALADARES FILHO, S.C.et al. Effect of replacing alfafa of silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.