

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

EFEITO DOS NÍVEIS DE NITROGÊNIO AMONIAICAL NO RÚMEN SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIA, PROTEÍNA MICROBIANA E PH RUMINAL

Priscila Ramos Simões PIRES^{*1}, Adelson José SANTANA NETO², Juliana Silva de OLIVEIRA³, Celso José Bruno de OLIVEIRA³, Edson Mauro SANTOS³, Vinicius da Silva SANTOS⁴ e Elizabete Cristina Batista da COSTA⁵

^{*1}Graduanda em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba. Areia, Paraíba, Brasil. E-mail: priscila.rspires@gmail.com

²Doutorado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, Brasil.

³Professor de Departamento de Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, Brasil.

⁴Mestrando em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

⁵Mestre em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, Brasil.

Abstract: The objective of this study was to evaluate the different levels of ammoniacal nitrogen in the rumen on the concentration of ammonia, microbial protein and ruminal pH. The in vitro assay was performed at the Laboratory of the Forage Sector of the Animal Science Department of the Federal University of Paraíba (UFPB), Areia, PB. The experiment was evaluated in the DIC with 6 levels of ruminal ammonia and 3 replicates, by adding urea in the incubation medium: 0; 5; 10; 15; 20 and 30 mg/dL, incubated for 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 and 96 hours. Each treatment had three replicates per time, in which the effect of ammoniacal nitrogen (N-NH₃) levels under the concentration of ammoniacal nitrogen, pH and microbial protein synthesis was evaluated. The 0 hour period had an increase in ruminal N-NH₃ concentration. For the 48-hour period there was an increase in N-NH₃ levels related to proteolysis. For microbial protein there was quadratic effect for the 48 hour period of fermentation. For pH, there was no effect on periods of 0 and 48 hours of fermentation. Ruminal N-NH₃ concentrations at levels between 15 and 20 mg/dL providing improvements in microbial protein synthesis in buffel hay diets.

Palavras-chave: capim buffel, caprino, fibra em detergente neutro, ureia

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

Na região semiárida do Brasil os sistemas de produção são caracterizados pela utilização de gramíneas tropicais como base da nutrição, por sua alta produção de matéria seca e baixo custo em comparação com alimentos concentrados. Todavia, em épocas de seca, o aproveitamento da forragem pelos animais é comprometido, devido ao aumento do teor de fibra e lignificação da parede celular.

Para utilizar de forma eficiente a fração fibrosa das forragens, a adição de compostos nitrogenados, pode ser uma forma de aumentar a taxa fracional de degradação da fibra desses alimentos (DETMANN et al., 2011).

Objetivou-se avaliar diferentes níveis de nitrogênio amoniacal no rúmen sobre a concentração de amônia, proteína microbiana e pH ruminal.

Material e Métodos

O ensaio *in vitro* foi realizado no Laboratório do Setor de Forragicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Paraíba (UFPB), do Centro de Ciências Agrárias, no município de Areia, PB. O experimento foi avaliado no DIC com 6 níveis de amônia ruminal e três repetições, através da adição de uréia no meio de incubação: 0; 5; 10; 15; 20 e 30 mg/dL, encubados por 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. Cada tratamento teve três repetições por tempo, em que foi avaliado o efeito dos níveis de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) sob a concentração de nitrogênio amoniacal, pH e síntese de proteína microbiana.

O líquido ruminal foi obtido a partir de um caprino fistulado no rúmen, o capim-buffel (*Cenchrus ciliaries*), foi coletado de uma pastagem deferida, onde a gramínea apresentava-se em um estado fenológico avançado e após a coleta foi seco sob ventilação forçada (60° C) e processado em moinho de facas com peneiras de 2 mm para uso nas incubações.

No laboratório, o líquido foi saturado com dióxido de carbono, colocado em repouso a 39°C e após formação das interfaces procedeu à retirada da fração

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

intermediária que foi centrifugada a 500 x G por 10 minutos e o sobrenadante descartado para obtenção de inóculo contendo população microbiana ativa (RUSSELL e MARTIN, 1984). O resíduo da centrifugação (*pellet*), foi re-suspenso mais duas vezes em tampão de McDougall (McDougall, 1949) autoclavado. Foram incluídos nas incubações três frascos sem inóculo, servindo de branco. Foi utilizado, em cada frasco de incubação, 35 ml do meio de cultura (28 ml de tampão de McDougall e 7 ml de inóculo), 350 mg de capim-buffel, ou apenas 35 ml do meio de cultura (branco). A uréia foi adicionada nos frascos de incubação para atingir as determinadas concentrações finais de N-NH₃ no meio de cultura de cada tratamento. Os seis tratamentos tiveram as seguintes constituições: 0; 3,19; 6,39; 9,58; 12,77 e 19,16 mg de uréia. Após a saturação os frascos foram tampados, lacrados e incubados a 39°C, em estufa incubadora BOD durante 96 horas. Durante a incubação foram retirados de todos os frascos, os gases produzidos através de seringas a cada 3 horas. O pH foi determinado utilizando um pHmetro. Foi retirado de cada unidade experimental 2,0 ml de amostra do meio de cultura que foram colocadas em tubos eppendorf e centrifugadas na microcentrífuga por 10 minutos, sendo o sobrenadante congelado para análise da concentração de N-NH₃ através do método colorimétrico de Chaney e Marbach (1962). O pelete resuspenso em solução de NaCl (0,9% p/v), foi descartado o sobrenadante, resuspenso novamente em solução de NaCl, e utilizado para determinação de proteína microbiana pelo método de Bradford (1976). Os resultados foram avaliados por intermédio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System).

Resultados e Discussão

Para o período de 0 hora, o aumento na concentração de N-NH₃ ruminal, era esperado, uma vez que houve incremento na concentração do mesmo em função dos tratamentos. Para o período de 48 horas, houve efeito linear, o aumento dos níveis de N-NH₃ está relacionado à proteólise que ocorreu nos tratamentos com

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

níveis mais baixos (0 e 5 mg de N-NH₃/dL), devido à desaminação feita pelos microrganismos proteolíticos, que atuaram promovendo uma fermentação na estrutura do feno de capim buffel, ainda que em menor quantidade nos tratamentos iniciais, essa quantidade se eleva com o incremento do nitrogênio não proteico incluído nos maiores níveis. (Tabela 1)

Tabela 1 – Efeito de níveis de nitrogênio amoniacal sobre a concentração de amônia, pH e proteína microbiana as 0 e 48 horas de incubação *in vitro*

Parâmetro	Níveis de Nitrogênio amoniacal, mg/dl						CV(%) ¹	R ²	p-value	
	0	5	10	15	20	30			L	Q
N-NH ₃ , mg/dL										
0 horas ²	1,63	3,47	7,12	7,87	8,56	11,81	17,60	0,94	0,018	ns
48 horas ³	16,38	16,46	19,46	25,55	34,99	42,68	14,67	0,94	0,013	ns
Proteína microbiana, mg/L										
0 horas	282,1	282,6	273,0	284,0	277,3	268,3	13,0	-	Ns	ns
48 horas ⁴	308,7	334,9	335,9	421,6	478,8	357,8	7,72	0,64	0,001	0,005
pH										
0 horas	6,80	6,83	6,86	6,87	6,83	6,83	0,74	0,56	ns	ns
48 horas ⁵	7,64	7,55	7,53	7,48	7,44	7,33	0,48	0,96	0,001	ns

¹CV = coeficiente de variação, probabilidade significativa ao nível de 5% de probabilidade (p < 0,05 pelo teste Tukey); NS = não significativo; L = linear; Q = quadrático, R²= Coeficiente de determinação. ² $\hat{Y}=2,34+0,0,330X$; ³ $\hat{Y}= 12,96+0,97X$; ⁴ $\hat{Y}= 283,66+14,53X-0,38X^2$; ⁵ $\hat{Y}= 7,63-0,009X$.

Para os resultados referentes à proteína microbiana houve efeito quadrático para o período de 48 horas de fermentação, sendo observado um ponto ótimo para eficiência de síntese de proteína microbiana, quando foi verificado uma concentração ótima de 19,11 mg de N-NH₃/dL de meio de cultura, isto pode ser explicado pelo fato dos microrganismos ruminais atuarem na utilização da amônia presente no ambiente juntamente com quantidade suficiente de carboidrato

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

proveniente do feno de buffel. A liberação lenta de nitrogênio não proteico advindo do capim-buffel limitou o crescimento microbiano, porque fenos desta gramínea pode apresentar cerca de 44,5% da PB na forma de NNP (Cabral 2014). Em níveis superiores ao ponto máximo a quantidade de proteína microbiana foi reduzida, devido à escassez de carboidratos rapidamente fermentescíveis no ambiente fermentativo para síntese de proteína microbiana, dessa forma a amônia foi retida e utilizada em menor quantidade, podendo ser verificada pela maior quantidade de amônia presente no meio.

Não houve efeito para o pH, nos períodos de 0 e 48 horas de fermentação.

Conclusão

Concentrações de N-NH₃ ruminal em níveis entre 15 e 20mg/dL implementam melhorias na síntese de proteína microbiana em dietas com feno de buffel.

Referências

- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CABRAL, J. E. S. **Fracionamento do nitrogênio e dos carboidratos de plantas encontradas na caatinga no Rio Grande do Norte**. Dissertação (Mestrado em Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 55 p. 2014.
- CHANEY, A.L., MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p.130-132, 1962.
- DETMANN, E., QUEIROZ, A.C., ZORZI, K., et al. Degradação in vitro da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com proteína verdadeira e/ou nitrogênio não-proteico Revista Brasileira de Zootecnia., v.40, n.6, p.1272-1279, 2011.
- McDOUGALL, E.I. Studies on ruminal saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemistry Journal**, v.43, p.99-109, 1949.
- RUSSELL, J.B.; MARTIN, S.A. Effects of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed rumen micorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v.59, p.1329-1338, 1984.