

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

ALCESTER MENDES

**Fornecimento de uréia na dieta de catetos (*Pecari tajacu*) e uso de isótopo estável  $^{15}\text{N}$  como marcador para estimativa da síntese de nitrogênio microbiano**

Piracicaba  
2008

ALCESTER MENDES

**Fornecimento de uréia na dieta de catetos (*Pecari tajacu*) e uso de isótopo estável  $^{15}\text{N}$  como marcador para estimativa da síntese de nitrogênio microbiano**

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente  
Orientador: Prof. Dr. Adibe Luiz Abdalla

Piracicaba

2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP**

Mendes, Alcester

Fornecimento de uréia na dieta de catetos (*Pecari tajacu*) e uso de isótopo estável  $^{15}\text{N}$  como marcador para estimativa da síntese de nitrogênio microbiano / Alcester Mendes; orientador Adibe Luiz Abdalla. - - Piracicaba, 2008.

102 f. : fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Animais silvestres 2. Fermentação microbiana 3. Fisiologia animal  
4. Nutrição animal I. Título

CDU 599.731.1:591.532

## **DEDICATÓRIA**

A minha esposa Adriana Ramos que com imenso amor me encorajou nos momentos difíceis dessa caminhada.

Aos meus pais Aldo Mendes e Alzira Assumpção Mendes e meus irmãos Ételcles Mendes e Adriana Mendes que como família se dedicaram a minha educação e formação.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que é Pai e amor.

Ao Prof. Dr. Adibe Luiz Abdalla pela oportunidade, orientação e amizade.

A Profa. Dra. Dorinha M. S. S. Vitti Kennedy pela amizade.

Ao Prof. Dr. Sérgio Luiz Gama Nogueira-Filho pelo incentivo, orientação e amizade, não medindo esforços para realização deste trabalho disponibilizando os animais, minha gratidão.

Ao Prof. Dr. José Albertino Bendassolli pelos ensinamentos e a sua equipe do laboratório de isótopos estáveis (LIE) pelos procedimentos analíticos.

Ao Dr. Ives Cláudio da Silva Bueno e ao Dr. Fábio Prudêncio de Campos pelos ensinamentos, sugestões e amizade.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, por conceder-me a oportunidade da realização dos meus estudos.

A equipe técnica do laboratório de nutrição animal (LANA): Maria Regina S. R. Peçanha, Lécio Aparecido Castilho e Joaquim Everaldo M. dos Santos pela amizade, ensinamentos e auxílio nos procedimentos experimentais e analíticos.

Ao funcionário Gilson Pereira dos Santos da fazenda experimental da Universidade de Santa Cruz - UESC (Ilhéus-BA) pela grande amizade e por todo esforço realizado para a concretização deste trabalho, e a todos os demais funcionários que auxiliaram direta e indiretamente.

Aos amigos Alessandro P. Minho, Ana Paula Roque, Antonio S. Baptista, Bernardo Berenchtein, Cibele Longo, Eduardo F. Nozella, Lerner A. Pinedo, Patrícia B. de Godoy, Priscila Brigide, Ronaldo C. de Lucas, Sérgio Lúcio S. Cabral Filho, Tanimara S. da Silva, pelos momentos de partilha das alegrias e dificuldades, minha sincera amizade.

Aos estagiários Ana Lúcia da Silva, Fernanda C. Campos, Jaqueline Mechi, Juliana da Silva, Mariana Novello, Érick S. I. Hernández, Niurca G. Ybarra pela ajuda oferecida sempre que necessário.

A família Franco Mendes (Ételcles, Elisa, Cecília e Letícia) pelo amor sem medidas, minha eterna gratidão.

A Obra de Maria (Focolares) pelo carisma da unidade.

Aos animais utilizados neste trabalho, em especial aos catetos, o meu respeito.

O amor é a norma suprema de toda ação, norma essa que promove a verdadeira justiça e traz a paz. As nações precisam de leis cada vez mais correspondentes às necessidades da vida social e internacional, mas sobretudo precisam de homens e mulheres que no seu íntimo saibam “ordenar” a caridade. Essa “ordem” é justiça, e só nessa ordem as leis têm valor.

*Chiara Lubich*

## RESUMO

MENDES, A. **Fornecimento de uréia na dieta de catetos (*Pecari tajacu*) e uso de isótopo estável  $^{15}\text{N}$  como marcador para estimativa da síntese de nitrogênio microbiano.** 2008. 102 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

A utilização racional da fauna silvestre é um processo benéfico, por resultar em vantagens econômicas e sociais, e ao mesmo tempo auxiliar no processo de conservação das espécies silvestres. Entre as espécies silvestres brasileiras com potencial zootécnico, destaca-se o cateto (*Pecari tajacu*), um animal que consome diversos tipos de alimentos e que produz carne e couro com elevada demanda nos mercados nacional e internacional, respectivamente. Uma característica desta espécie é a presença de um pré-estômago, onde ocorre fermentação microbiana que confere a esta espécie capacidade para digerir alimentos volumosos. Objetivou-se com o presente trabalho: (i) medir a capacidade digestiva usando doses crescentes de uréia como fonte de nitrogênio não protéico (NNP) na dieta de catetos; (ii) avaliar a eficiência da microbiota do pré-estômago de catetos em proceder à fermentação anaeróbica da dieta, através da técnica de produção de gases para diferentes doses de uréia; (iii) estimar a síntese de nitrogênio microbiano *in vitro* utilizando o isótopo estável  $^{15}\text{N}$  como marcador. O trabalho foi dividido em três capítulos. No primeiro foi utilizado delineamento com distribuição inteiramente aleatória, no qual as possíveis seqüências dos tratamentos (doses de uréia: 0,0; 1,0; 1,5; 2,0 %) foram atribuídas aleatoriamente em cinco ensaios com quatro animais cada. No segundo e terceiro capítulos, o delineamento empregado foi com distribuição inteiramente aleatória em arranjo fatorial 4 X 2, no qual foram utilizados quatro doses de uréia, duas fontes de inóculo (espécie animal: cateto e ovino) e cinco repetições. Os resultados para digestibilidade da MS, PB e FDN não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pelas doses de uréia, contudo, podem ter proporcionado incremento na síntese microbiana melhorando a digestibilidade da fibra. O BN cresceu linearmente com o incremento das doses de uréia ( $R^2 = 0,97$ ), apresentando retenção de  $8,95 \text{ g dia}^{-1}$  de N para maior dose e  $5,22 \text{ g dia}^{-1}$  de N para a dieta sem uréia, não havendo efeito significativo ( $P>0,01$ ) para as perdas de N fecal e urinário. No segundo trabalho, houve produção de gases ( $197 \text{ mL g}^{-1} \text{ MS}$ ) utilizando inóculo de cateto, contudo, não apresentou correlação com os tratamentos. A digestibilidade

da MS (MSD), MO (MOD) e FDN (FDND) e a produção de gases em função da MSD, MOD e FDND apresentaram diferença significativa ( $P < 0,01$ ) para os tratamentos, havendo crescimento linear ( $P > 0,01$ ) para digestibilidade de FDN ( $R^2 = 0,50$ ) e regressão linear inversa para produção de gases em função da FDND ( $R^2 = 0,51$ ). A produção de gás metano em função da MS, MO, MSD e MOD utilizando inóculo de cateto, apresentou diferença significativa ( $P < 0,01$ ) para os tratamentos, porém com baixo coeficiente de correlação entre as doses crescentes de uréia. A síntese de nitrogênio microbiano para o inóculo de cateto, não apresentou efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para os tratamentos. A produção de nitrogênio amoniacal foi significativa ( $P < 0,01$ ) para as diferentes doses de uréia com ajuste de regressão linear aditiva ( $R^2 = 0,50$ ). A produção de gases mostra que a dieta concentrada foi degradada devido à presença de microrganismos no inóculo de cateto. Estes microrganismos foram capazes de hidrolisar a uréia em amônia e esta, por sua vez, convertida em compostos nitrogenados para síntese microbiana, mostrando a eficiência da fisiologia digestiva deste animal no aproveitamento do NNP. Além disso, os resultados *in vivo* indicam que o pré-estômago dos catetos foi capaz de utilizar uréia como fonte NNP, podendo substituir parte da proteína dietética em sua alimentação.

Palavras-chave: Cateto; *Pecari tajacu*; Ureia; NNP; Digestibilidade; Balanço de nitrogênio; Produção de gases; Isótopo estável;  $^{15}\text{N}$ ; Síntese microbiana

## ABSTRACT

MENDES, A. **Provision of urea in diet peccary collared (*Pecari tajacu*) and use of stable isotope  $^{15}\text{N}$  how to marker to estimate of microbial nitrogen synthesis.** 2008. 102 f. Thesis (Doctoral) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

The rational use of wild fauna is a beneficial process, as it results in economical and social advantages, and at the same time helps in the conservation process of wild species. Among the wild Brazilian species with zootechnical potential, the collared peccary (*Pecari tajacu*) stands out as an animal that consumes several kinds of foods and produces meat and pelt with a high demand in national and international markets, respectively. A characteristic of this species is the presence of a fore-stomach, where the microbial fermentation occurs, which enables this species to digest coarse roughage. The objective of this study was (i) to measure the digestive efficiency in the using increasing doses of urea as source of non protein nitrogen (NPN) in the collared peccary diet; (ii) to evaluate the efficiency of collared peccary fore-stomach microorganisms in proceed to anerobic fermentation of diet, using the *in vitro* gas production technique at different urea doses; (iii) to estimate the *in vitro* microbial nitrogen synthesis using stable isotope  $^{15}\text{N}$  as marker. This study is divided into three chapters. In the first chapter, an experimental design with entirely randomized distribution was used where the urea doses (0.0; 1.0; 1.5; 2.0 %) were randomly used in five assays with four animals each. In the second and third chapters, the experimental design used had an entirely randomized distribution, resulting in a 4 x 2 factorial experiment, in which four urea doses, and two sources of inoculum (collared peccary and sheep) and five replications. The DM, CP, and NDF digestibility results were not influenced ( $P>0.05$ ) by the urea doses, however, they may have increased the microbial synthesis, improving fiber digestibility. The NB increased linearly with the increasing doses of urea ( $R^2 = 0.97$ ), presenting an N retention of 8.95 g day<sup>-1</sup>, for the highest dose of urea and 5.22 g day<sup>-1</sup> for a non urea diet, without significant effect ( $P>0.01$ ) to the losses of fecal and urinary N. In the second study, there was gas production (197 mL g<sup>-1</sup> DM) using the collared peccary inoculums; however there was no correlation with the treatments. The DM (DMD), OM (OMD) and NDF (NDFD) digestibility and gas production as a function of DMD, OMD and NDFD showed a significant difference ( $P<0.01$ ) for the treatments, showing

a linear increase ( $P > 0.01$ ) in NDF digestibility ( $R^2 = 0.50$ ) and inverse linear regression for gas production as a function of NDFD ( $R^2 = 0.51$ ). The methane gas production as a function of DM, OM, DMD, and OMD using peccary fore-stomach inoculum showed significant difference ( $P < 0.01$ ) for the treatments, but with a low correlation coefficient between increasing doses of urea. The microbial nitrogen synthesis for the peccary inoculum did not show significant effect ( $P < 0.01$ ) for the treatments, in contrast, the production of ammoniacal nitrogen was significant ( $P < 0.01$ ) at different urea doses with an adjustment of additive linear regression ( $R^2 = 0.50$ ). The gas production showed that concentrated diet was degraded because of microorganisms presents in the collared peccary inoculum. These microorganisms present in the inoculum could hydrolyse the urea in ammonia and this, in its turn, is converted into nitrogen compounds for microbial synthesis, showing the efficiency of this animal's digestive physiology in NPN use. Furthermore, *in vivo* results show that the pre-stomach of the collared peccary was capable to use urea as source NPN, thus could substitute part of the dietary protein in his/her feeding.

**Keywords:** Collared peccary; *Pecari tajacu*; Urea; NPN; Digestibility; Nitrogen balance; Gas production; Stable isotope;  $^{15}\text{N}$ ; Microbial synthesis

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1.	Gaiola metabólica para catetos.....	36
Figura 3.2.	Regressão linear entre o BN e diferentes doses de uréia na dieta de catetos.....	46
Figura 4.1.	Produção acumulada de gases utilizando inóculo de cateto e ovino.....	62
Figura 4.2.	Regressão linear entre a digestibilidade da FDN (DFDN) pelo resíduo da digestão <i>in vitro</i> em função das doses de uréia para inóculo de cateto.....	72
Figura 4.3.	Regressão linear entre a produção de gases (mL g <sup>-1</sup> FDND) e doses de uréia para inóculo de cateto.....	73
Figura 5.1.	Regressão linear entre a produção de nitrogênio amoniacal e doses de uréia para inóculo de ovino e cateto.....	93

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 -	Quantidade de uréia fornecida aos catetos proporcional ao consumo da dieta experimental.....	37
Tabela 3.2 -	Composição proximal na matéria seca da dieta experimental fornecida aos catetos.....	38
Tabela 3.3 -	Efeito das doses de uréia na dieta de catetos sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN).....	44
Tabela 3.4 -	Efeito das doses de uréia na dieta de catetos para as médias de nitrogênio consumido, fecal, urinário e do BN.....	45
Tabela 4.1 -	Composição proximal na matéria seca da dieta experimental fornecida aos animais.....	55
Tabela 4.2 -	Análise de variância da produção acumulada de gases ( $\text{mL g}^{-1}$ MS) para as doses de uréia nos diferentes tempos de incubação em cada espécie..	64
Tabela 4.3 -	Coefficiente de correlação entre a produção acumulada de gases ( $\text{mL g}^{-1}$ MS) e as doses de uréia nos diferentes tempos de incubação.....	65
Tabela 4.4 -	Comparação das médias de produção acumulada de gases entre cateto e ovino nos diferentes tempos de incubação.....	66
Tabela 4.5 -	Análise de variância da DMS, DMO, DFDN e produção de gases em função da MO, MSD, MOD, FDND para as doses de uréia em cada espécie.....	68
Tabela 4.6 -	Comparação das médias da DMS, DMO, DFDN e produção de gases em função da MO, MSD, MOD, FDND entre cateto e ovino.....	69
Tabela 4.7 -	Coefficiente de correlação entre as doses de uréia e a DMS, DMO, DFDN e produção de gases em função da MO, MSD, MOD, FDND para cada espécie.....	71

Tabela 4.8 -	Análise de variância da produção de gás CH <sub>4</sub> (μL g <sup>-1</sup> ) em função da MS, MO, MSD, MOD e FDND para as diferentes doses de uréia em cada espécie.....	75
Tabela 4.9 -	Coefficiente de correlação entre a produção de gás metano (μL g <sup>-1</sup> ) e as diferentes doses de uréia.....	76
Tabela 4.10 -	Comparação da produção de CH <sub>4</sub> para as diferentes doses de uréia entre cateto e ovino.....	77
Tabela 5.1 -	Composição proximal na matéria seca da dieta experimental fornecida aos animais.....	85
Tabela 5.2 -	Análise de variância da produção de N amoniacal (mg L <sup>-1</sup> ) e N microbiano (mg g <sup>-1</sup> MS) para as diferentes doses de uréia em cada espécie.....	91
Tabela 5.3 -	Coefficiente de correlação (r) entre a produção de N-NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> ) e síntese de NM (mg g <sup>-1</sup> MS) e as doses de uréia.....	92
Tabela 5.4 -	Comparação da produção de N-NH <sub>3</sub> e síntese de NM para as diferentes doses de uréia entre cateto e ovino.....	94

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	Considerações gerais.....	20
2.2	Fisiologia digestiva do cateto.....	21
2.3	Utilização de nitrogênio não protéico (NNP).....	24
2.4	Síntese microbiana <i>in vitro</i> .....	26
2.5	Digestibilidade aparente <i>in vivo</i> e balanço de nitrogênio.....	28
2.6	Produção de gases <i>in vitro</i> .....	30
3	DIGESTIBILIDADE <i>IN VIVO</i> E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM CATETOS ALIMENTADOS COM DOSES CRESCENTES DE URÉIA....	32
	Resumo.....	32
	Abstract.....	33
3.1	INTRODUÇÃO.....	34
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.2.1	Local do estudo e animais experimentais.....	35
3.2.2	Dieta experimental.....	37
3.2.3	Condução do experimento.....	38
3.2.4	Coleta e preparo das amostras.....	39
3.2.5	Delineamento experimental e análise estatística.....	40
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
3.3.1	Digestibilidade <i>in vivo</i> : matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN).....	43
3.3.2	Balanço de nitrogênio (BN).....	44
3.4	CONCLUSÕES.....	48

4	AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA FERMENTAÇÃO MICROBIANA EM CATETOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PRODUÇÃO DE GASES UTILIZANDO DOSES CRESCENTES DE URÉIA ALIMENTAR.....	49
	Resumo.....	49
	Abstract.....	50
4.1	INTRODUÇÃO.....	51
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	53
4.2.1	Local do estudo e animais experimentais.....	53
4.2.2	Dieta experimental.....	54
4.2.3	Condução do experimento.....	55
4.2.4	Coleta do inóculo.....	56
4.2.5	Preparo do inóculo.....	57
4.2.6	Produção de gases.....	57
4.2.7	Delineamento experimental e análise estatística.....	58
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4.3.1	Produção acumulada de gases.....	61
4.3.2	Produção de gases a partir da digestibilidade da MS, MO e FDN.....	67
4.3.3	Produção de gás metano (CH <sub>4</sub> ).....	74
4.4	CONCLUSÕES.....	78
5	ESTIMATIVA DA SÍNTESE DE NITROGÊNIO MICROBIANO <i>IN VITRO</i> UTILIZANDO O ISÓTOPO ESTÁVEL <sup>15</sup> N COMO MARCADOR EM DIGESTA DO PRÉ-ESTÔMAGO DE CATETO.....	79
	Resumo.....	79
	Abstract.....	80
5.1	INTRODUÇÃO.....	81
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	82
5.2.1	Local do estudo e animais experimentais.....	82

5.2.2	Dieta experimental.....	83
5.2.3	Condução do experimento.....	85
5.2.4	Coleta do inóculo.....	86
5.2.5	Preparo do inóculo.....	86
5.2.6	Síntese de N microbiano em digestibilidade <i>in vitro</i> .....	87
5.2.7	Delineamento experimental e análise estatística.....	89
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	90
5.3.1	Produção de N amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ) e síntese de N microbiano (NM)...	90
5.4	CONCLUSÕES.....	95
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
	REFERÊNCIAS.....	97

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A crescente demanda por carnes diferenciadas tem despertado interesse de instituições de pesquisa e produtores rurais nos últimos anos. Para atender a esta demanda, alguns produtores optaram pela importação de espécies exóticas, como o javali (*Sus scrofa*), o que provocou sérios riscos de ordem sanitária e ecológica ao país (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2004), o que levou à proibição, por parte do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), da importação de novos animais e da instalação de novos criadouros de javalis e seus híbridos no Brasil (Portaria IBAMA No. 102 de 1998).

No Brasil, entretanto, existem várias espécies silvestres nativas com potencial zootécnico e, entre elas o cateto ou caititu (*Pecari tajacu*) destaca-se por reproduzir o ano todo; viver em grupos sociais e consumir uma grande diversidade de alimentos (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2004). Adicionalmente, existe uma grande demanda no mercado internacional pelo seu couro, que é fino e alia maciez, resistência e durabilidade, enquanto sua carne tem maior importância para subsistência e comercialização nos mercados regionais (BODMER; PEZO, 1999; NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2004; SOWLS, 1997).

A criação comercial de espécies autóctones é uma opção de utilização racional da grande diversidade animal de nosso país, auxiliando no processo de conservação destas espécies e gerando recursos econômicos que beneficiariam produtores rurais de regiões onde as condições locais dificultam a implantação de uma pecuária tradicional. A produção comercial de espécies silvestres também poderia ser uma solução para comunidades rurais em reservas extrativistas e comunidades tradicionais, como os caiçaras do litoral paulista, por permitir que estas

populações possam preservar seus valores culturais relacionados ao uso de recursos naturais.

Atualmente, o único país Sul Americano que exporta legalmente pele de catetos é o Peru. Neste país, populações de vida livre desta espécie são manejadas em seu ambiente natural fornecendo proteína animal para subsistência de populações tradicionais na região amazônica (BODMER, 1999). Esta população se beneficia também com a exportação anual de 40000 peles. Esta cota foi estabelecida pela agência ambiental do governo do Peru de acordo com os requisitos da convenção internacional (CITES) que regulamenta o tráfico de espécies e produtos de espécies silvestres (BODMER, 1999).

A extração sustentável máxima de animais silvestres em florestas neotropicais, com uma composição similar à do Parque Nacional de Manu no Peru, seria em torno de 152 kg por km<sup>2</sup> – cerca de 11% da biomassa, o equivalente a parques 15,2 kg ha<sup>-1</sup> (ROBINSON; BENNETT, 2000). No caso do cateto é possível extrair de forma sustentável apenas 125 g ha<sup>-1</sup> (REDFORD; ROBINSON, 1991). Produtividade esta, portanto, que não atende à demanda da crescente população humana da região amazônica e outras regiões com florestas tropicais.

Além da baixa produtividade haveria implicações legais para implantação deste tipo de manejo no Brasil. Isto porque a caça comercial é proibida pela Lei de Proteção à Fauna (Lei No. 5197 de 1967). Antes desta lei, eram exportadas anualmente uma média superior a 450000 peles de catetos (IBGE, 1970). O que mostra que a atual produção peruana atende apenas a menos de 10% do total exportado pelo Brasil no final do século passado. Estes valores evidenciam o potencial de exploração dos produtos feitos com o couro deste animal, cujos principais países importadores são Itália, Alemanha e França (SOWLS, 1997). O

couro poderia, desta forma, representar um valor adicional na composição do preço de venda, conferindo maior rentabilidade à atividade de criação comercial desta espécie.

Em outros países latino-americanos, a exploração desta espécie é feita de forma ilegal. Na Bolívia, por exemplo, em 1988 foram confiscados 9300 couros. Em 1999 o governo Paraguai apreendeu 7100 couros (BARBARÁN, 1999). Na Argentina, apesar de ser proibida, a caça comercial desta espécie ainda ocorre especialmente na cidade de Salta na Argentina, onde existe até mesmo uma tabela de preços para o couro deste animal. Neste país, os caçadores recebem de US\$ 2,50 a US\$ 3,00 por unidade que, após processada, é comercializada pelos curtumes a US\$ 45,00 por m<sup>2</sup> no mercado internacional (BARBARÁN, 1999); enquanto um par de luvas feito com o couro de cateto chega a ser comercializado a US\$195 em Nova York, EUA (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2004).

Por sua vez, a carne de cateto é de excelente qualidade, com 22,7% de proteína bruta e apenas 1,5% de gordura (CARRILO, 1999). Apresenta baixos níveis de colesterol, paladar suave e levemente adocicado. No estado de São Paulo, os principais consumidores de carne proveniente de criatórios de animais silvestres são os restaurantes, açougues e supermercados de grandes centros urbanos brasileiros (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2000).

Em butiques de carne localizados na cidade de São Paulo a carne de catetos chega a ser comercializada a R\$38,00 o quilo. Caso os criadores se organizem na forma de associações de produtores a comercialização destes produtos poderá ser feita de forma direta, eliminando-se os intermediários que atuam nesta área, o que garantirá rentabilidade econômica da atividade, possibilitando uma renda

complementar bastante significativa (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2000; SANTOS, 2003).

Os catetos podem ser considerados onívoros devido a grande variedade de alimentos consumidos, mas são predominantemente frugívoros em florestas tropicais (BODMER, 1990; KILTIE, 1981). Geralmente são oportunistas, consomem, além de frutos, pequenos animais, insetos, raízes, tubérculos e gramíneas (EDDY, 1961; KILTIE, 1981; SOLWS, 1984). Seu estômago é dividido em compartimentos. O pré-estômago, composto pela câmara de fermentação e dois sacos cegos e, posteriormente, o estômago glandular.

Esses animais apresentam uma fisiologia digestiva mais semelhante à de um ruminante do que um animal monogástrico. O pré-estômago dos catetos apresenta condições ideais para que ocorra uma fermentação microbiana e conseqüentemente produção de proteína microbiana que pode ser digerida e absorvida no trato digestório posterior (BODMER, 1989; CARL; BROWN, 1983; COMIZZOLI et al., 1997; LANGER, 1979; NOGUEIRA-FILHO, 2005).

O cateto já vem sendo criado em cativeiro por vários produtores rurais no Brasil, mas seus custos de produção são bastante elevados quando comparados, por exemplo, ao custo de produção de suínos (NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997). A alimentação representa aproximadamente 80% destes custos (SANTOS, 2003), que podem ser reduzidos com o incremento no conhecimento existente sobre as práticas de manejo desta espécie em cativeiro e, em especial, sobre sua fisiologia digestiva.

O presente trabalho foi apresentado em três capítulos. O primeiro refere-se em medir a capacidade digestiva do cateto utilizando uréia como fonte de nitrogênio não protéico (NNP) na dieta. O segundo refere-se a avaliar *in vitro* a eficiência da

microbiota do pré-estômago do cateto através da técnica de produção de gases para doses crescentes de uréia. O terceiro trabalho refere-se em estimar a síntese de nitrogênio microbiano *in vitro* com o uso do isótopo estável  $^{15}\text{N}$  como marcador.

Objetivou-se com o presente trabalho: (i) determinar a digestibilidade e o balanço de nitrogênio (BN) usando diferentes doses de uréia na dieta de catetos; (ii) avaliar a fermentação microbiana *in vitro* para crescentes doses de uréia utilizando conteúdo do pré-estômago de catetos; (iii) estimar a síntese de nitrogênio microbiano do conteúdo do pré-estômago de catetos usando isótopo estável  $^{15}\text{N}$ .

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Considerações gerais

Entre as espécies silvestres brasileiras que apresentam potencial zootécnico tanto para a produção de carne quanto couro, destaca-se o cateto (*Pecari tajacu*) conhecido também como caititu ou porco do mato. Sua criação em cativeiro é bastante simples de ser manejada porque vivem em grupos sociais estáveis, formados por machos e fêmeas, adultos e filhotes, o que reduz a necessidade de instalações (NOGUEIRA-FILHO, 1999). Apesar destes grupos serem compostos por 5 a 15 indivíduos em condições naturais, sazonalmente formam agregações maiores (FRAGOSO, 1999), o que permite, em cativeiro, a formação de grandes grupos com até 450 animais em 5,0 ha e a conseqüente redução nos custos de produção (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2004).

Este mamífero pertence à ordem *Artiodactyla*, subordem *Suiforme* e à família *Tayassuidae*. As fêmeas são poliétricas anuais, com um período de gestação em

torno de 145 dias, podendo nascer em média dois filhotes por parição. O ciclo estral dura em média 23 dias e as fêmeas são receptivas em média por três a quatro dias (MAYOR et al., 2007; NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997).

Em condições de cativeiro no CIZBAS/ ESALQ/ USP foram registrados 140 a 148 dias o período de gestação; um a três filhotes por ninhada, com uma média de  $1,6 \pm 0,7$  filhotes por parição; peso médio ao nascer de 0,7 kg para machos e 0,6 kg para fêmeas; percentuais de nascimento de 56,8% para fêmeas e 43,2% para machos; intervalo entre partos de  $215,1 \pm 57,1$  dias; primeira parição observada com idade média de  $416 \pm 88,9$  dias (NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997).

## **2.2 Fisiologia digestiva do cateto**

Normalmente este animal é considerado onívoro devido à grande variedade de alimentos consumidos, que inclui frutos, raízes, tubérculos, gramíneas e, por se alimentar, oportunamente, de pequenos animais (EDDY, 1961; SOLWS, 1984;). Esta plasticidade alimentar facilita sua criação em cativeiro, onde se adaptam a vários tipos de alimentos como milho, silagem de milho, mandioca, raspa de mandioca, silagem de sorgo, cana-de-açúcar, bagaço de cana-de-açúcar hidrolisado, abóbora, jaca, torta de dendê, feno de rama de mandioca, folhas e ponteiros de rami além da ração comercial para suínos (LIVA et al., 1989; NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997; NOGUEIRA-FILHO et al., 2006).

Devido às características no trato digestório (pré-estômago formado pela câmara de fermentação e dois sacos cegos), Langer (1979) sugeriu que a digestão em catetos seria semelhante à de um animal ruminante. Posteriormente, Bodmer

(1989) determinou um pH médio de  $6,30 \pm 0,04$  no pré-estômago ( $n = 12$ ) e  $4,52 \pm 0,70$  ( $n = 12$ ) no estômago de catetos. Lochmiller et al. (1989) encontraram valores inferiores para o pH do pré-estômago de catetos ( $5,14 \pm 0,24$ ;  $n = 7$ ), devido, provavelmente, à mistura dos conteúdos do pré-estômago e do estômago durante a coleta das amostras. Desta forma, os valores de pH encontrados no pré-estômago de catetos são compatíveis com a sobrevivência de bactérias celulolíticas (SOWLS, 1984).

Carl e Brown (1983) encontraram populações de protozoários no pré-estômago de catetos, a maioria do gênero *Entodinia*, os quais *Entodinia caudatum*, sendo encontrado também em menor número protozoários do gênero *Dasytricha*.

O uso de vegetais fibrosos depende das atividades metabólicas das populações de microrganismos anaeróbios que colonizam locais de fermentação. Estes locais são compartimentos onde o tempo de trânsito das partículas é bastante retardado para permitir a digestão microbiana das fibras (DUKES, 1996). Strey e Brown (1989) afirmam que os catetos selecionam forragens altamente digestíveis e partes externas de plantas com alto teor de fibra. Carl e Brown (1986) comparam a ingestão alimentar e a eficiência digestiva do cateto com a do cervo (*Odocoileus virginianus*) e, sugeriram que o cateto pode ser tão bom quanto outros herbívoros na digestão de fibra, ao qual atribuem a lenta taxa de passagem, afetada pelo conteúdo de fibra e digestibilidade da dieta.

Comizzoli et al. (1997) estudaram o efeito do nível de fibra de diferentes alimentos sobre a digestibilidade aparente do trato digestivo total em catetos adultos e, verificaram que a digestibilidade dos constituintes fibrosos foi constantemente alta em torno de 62% para fibra em detergente neutro (FDN). Estes autores determinaram também que o tempo de trânsito foi significativamente maior na

presença de componentes fibrosos e observaram que a capacidade do cateto em digerir componentes fibrosos é consistentemente mais alta do que a de coelhos, sugerindo que o cateto apresenta uma capacidade digestiva de dietas fibrosas, semelhante à de animais ruminantes.

Isto foi confirmado posteriormente por Nogueira-Filho (2005). Neste estudo, foram avaliados os efeitos de níveis crescentes de alimentos volumosos sobre a digestibilidade de nutrientes pelo cateto. O autor determinou que, mesmo com níveis elevados de lignina, os catetos digeriram alimentos volumosos de forma semelhante à animais ruminantes. Concluiu afirmando que a capacidade do cateto no aproveitamento de forragens e sub-produtos da alimentação humana, coloca esta espécie como uma alternativa para produção animal.

A fermentação microbiana no pré-estômago de catetos é importante para seu metabolismo energético. A fermentação dos carboidratos da dieta pelos microrganismos produz os ácidos graxos voláteis (AGV), constituindo a maior fonte de energia (ATP – adenosina trifosfato) para o ruminante, principalmente o propionato, sendo de fundamental importância para a neoglicogênese, pois é principal precursor da glicose (SILVA; LEÃO, 1979).

Lochmiller et al. (1989) encontraram concentrações de ácidos graxos voláteis de  $88,9 \pm 22,9 \text{ mmol L}^{-1}$  no pré-estômago de catetos. As proporções de ácido acético, propiônico e butírico são semelhantes às encontradas no rúmen de bovinos e ovinos (SOWLS, 1984). A concentração destes ácidos graxos reduz-se no trato digestivo posterior o que evidencia sua absorção (LOCHMILLER et al., 1989). O que também é evidenciada pela baixa exigência energética diária para manutenção de apenas  $148,5 \text{ kcal/kg}^{0,75}$  de energia digestível para catetos (GALLAGHER; VARNER; GRANT, 1984), equivalente a uma dieta com  $1400 \text{ kcal dia}^{-1}$  de energia digestiva

para um cateto adulto com 20 kg de peso vivo que é superior a de animais ruminantes.

Além do metabolismo energético, a fermentação microbiana é importante para o balanço nitrogenado/protéico para os catetos. Comizzoli et al. (1997) determinaram que o coeficiente de nitrogênio retido (% de nitrogênio digerido) pelos catetos foi sempre positivo, 42,1% para nível alto de fibra na dieta (35 g/ kg<sup>0,75</sup>) e 29,1% para nível baixo de fibra na dieta (25 g/ kg<sup>0,75</sup>).

A exigência de nitrogênio (proteína bruta) para manutenção em catetos adultos de ambos os sexos foi determinada por Gallagher, Varner e Grant (1984) e por Carl e Brown (1985), através de ensaios de balanços nutricionais. Os primeiros autores determinaram uma exigência diária de 0,837 g/ kg<sup>0,75</sup>, enquanto os últimos em 0,815 g N/ kg<sup>0,75</sup>. Estes níveis são atendidos com uma dieta contendo 6,8% de proteína bruta, para um animal adulto com 20 kg de peso vivo que é próxima à de cervo do rabo branco (*Odocoileus virginianus*) e bovinos, que são ruminantes verdadeiros e, menor do que para suínos, animais monogástricos (CAMPOS, 1994; CARL; BROWN, 1985). Devido a estes resultados, Carl e Brown (1985) sugeriram que a fermentação no pré-estômago de catetos é mais importante como local de síntese de proteína microbiana, que posteriormente será aproveitada pelo animal, do que propriamente para seu metabolismo energético.

### **2.3 Utilização de nitrogênio não protéico (NNP)**

As bactérias e os protozoários do rúmen de bovinos e ovinos podem sintetizar seus constituintes nitrogenados usando amônia como principal fonte de nitrogênio. A amônia pode ser derivada da proteína dietética, da uréia da saliva e da uréia que se

difunde através da parede do rúmen. O líquido ruminal tem atividade de uréase, de tal forma que a uréia que ali penetra é hidrolisada rapidamente em amônia e CO<sub>2</sub>, e assim utilizada pelos microrganismos para sintetizar proteína de alta qualidade, que é subseqüentemente sujeita à digestão e absorção (REECE, 1996).

A uréia alimentar é a fonte de nitrogênio não protéico mais utilizada. Contém de 42 a 45% de nitrogênio, o que representa um equivalente protéico de 281%, podendo substituir até um terço da proteína total ingerida pelo animal, visando diminuir a utilização de suplementos protéicos, geralmente de preços elevados (ANDRIGUETTO et al., 1988). Faria, Peixoto e Moura (1992) afirmam que o emprego da uréia tem como objetivo básico o barateamento do custo da alimentação, por ser capaz de introduzir na dieta uma fonte potencial de proteína de custo baixo, acrescentando nitrogênio em dietas com forragens de baixo valor nutritivo ou em substituição de concentrados protéicos. A viabilidade do seu uso depende do preço de mercado deste produto derivado do petróleo.

Para seu uso é preciso alguns cuidados. Entre eles, é necessário fornecer fontes prontamente utilizáveis de carboidratos solúveis, como grãos e, ou melaço de cana-de-açúcar. Caso contrário ocorrerá a formação de cetoácidos em velocidade e quantidade limitantes para a síntese de aminoácidos, podendo ultrapassar a capacidade de utilização do nitrogênio pelos microrganismos, ocorrendo uma maior formação de amônia no líquido ruminal, conseqüentemente elevação do pH e uma rápida absorção da mesma elevando sua concentração na corrente sanguínea, resultando em intoxicação, afetando o sistema nervoso (ANDRIGUETTO et al., 1988). Segundo Faria, Peixoto e Moura (1984), o consumo de grandes quantidades de uréia, acima de 45 a 50 g por 100 kg de peso corporal pelo bovino, num curto período, pode ser fatal ao gado não adaptado.

Para catetos o uso da uréia já foi testado. Nogueira-Filho et al. (2006) avaliaram a adição de uréia na dieta de catetos em cativeiro até o nível equivalente a 55 g por 100 kg peso vivo e observaram que os animais não exibiram sinais de intoxicação e apresentaram ganho de peso, contudo afirmam a necessidade de estudos futuros para a avaliação do uso da uréia por períodos prolongados, uma vez que foi verificada também um incremento no nível sérico da uréia.

A possibilidade da utilização de uréia como fonte de nitrogênio não protéico para a criação de catetos, possibilita a utilização da uréia enriquecida com  $^{15}\text{N}$  como um marcador para quantificar a síntese de proteína microbiana e seu aproveitamento pelo organismo dos catetos.

#### **2.4 Síntese microbiana *in vitro***

Os diferentes microrganismos presentes nas câmaras fermentativas dos animais herbívoros têm diferentes atividades metabólicas, especialmente em relação aos recursos de energia e nitrogênio. A disponibilidade de energia estimula a utilização de nitrogênio amoniacal e conseqüentemente afeta a taxa de síntese de proteína microbiana. Igualmente importante é a suplementação de nitrogênio que afeta, por sua vez, as taxas de degradação e síntese microbiana (CHURCH, 1988).

A proteína que chega no duodeno dos ruminantes é composta por nitrogênio proveniente da dieta, e dos microrganismos produzidos do rúmen, além de nitrogênio endógeno, proveniente das enzimas digestivas. Um dos maiores problemas enfrentados pelos nutricionistas, portanto, é a determinação da contribuição microbiana na suplementação de nitrogênio no intestino delgado destes animais. Isto é devido ao fato que tanto a proteína microbiana quanto a proteína da

dieta, estão presentes no conteúdo ruminal, não podendo ser usualmente diferenciadas através de recursos químicos. Entretanto, tem-se conseguido através de práticas de aproximação indireta, estimar a síntese de proteína microbiana *in vitro* e *in vivo* com a utilização de marcadores isotópicos presentes na massa microbiana (CALSAMIGLIA; STERN; FIRKINS, 1996; HARMEYER et al., 1976).

Com marcadores isotópicos pode-se marcar desde uma bactéria até uma molécula e seguir seu caminho pelo organismo do animal hospedeiro. O traçador isotópico consiste na substituição de um ou mais átomos da molécula pelo seu isótopo, que pode ser radioativo ou estável. Estes isótopos possuem propriedades químicas iguais, diferenciando-se apenas por apresentarem uma maior atividade específica, quando radioativo, ou abundância, quando estável. Os marcadores ou traçadores isotópicos, tais como  $^{14}\text{C}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$  e  $^{15}\text{N}$  têm sido fundamentais no estudo da digestão dos alimentos pelos microrganismos do rúmen na nutrição animal (IAEA, 1974).

Para estimar a síntese microbiana em ruminantes pode ser utilizado o isótopo estável  $^{15}\text{N}$ . Este isótopo tem sido eficientemente utilizado para estudos *in vivo* (CABRAL FILHO, 2004; MARTIN; WILLIAMS; MICHALET-DOREAU, 1994) e *in vitro* (BUENO, 2002; WANG et al., 2000; WANG; ALEXANDER; McALLISTER, 2004), havendo uma correlação constante entre a taxa do marcador incorporado e o crescimento das células microbianas (HARMEYER et al., 1976). As fontes do marcador  $^{15}\text{N}$  utilizadas neste processo fermentativo do crescimento microbiano podem ser o sulfato de amônio ou a uréia, ambos enriquecidos com o isótopo estável  $^{15}\text{N}$ .

## 2.5 Digestibilidade aparente *in vivo* e balanço de nitrogênio

Através da determinação da digestibilidade dos nutrientes é possível conhecer a quantidade de cada nutriente que o animal tem condição de utilizar (SILVA; LEÃO, 1979). A partir da composição química do alimento consumido e das fezes excretadas, determina-se a digestibilidade de suas várias frações. Assim, a quantidade de nutrientes que é aparentemente digerida, é determinada pela diferença entre a quantidade do nutriente ingerido e aquela excretada nas fezes (SILVA; LEÃO, 1979). Desta forma, um determinado alimento possui um valor nutricional que varia para as diferentes espécies de animais, em razão das diferenças na capacidade de digestão e absorção destes nutrientes (ANDRIGUETTO et al., 1988). Resumidamente, a digestibilidade pode ser definida como sendo a fração do alimento consumido que não é recuperada nas fezes, supondo que esta fração foi digerida e absorvida.

Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes são determinados através de ensaios de digestibilidade. Durante estes ensaios, o alimento é fornecido ao animal, em quantidade controlada, enquanto as fezes produzidas e eventuais sobras alimentares, são coletadas e mensuradas. Posteriormente, são feitas análises químico-bromatológicas do alimento e das fezes e, finalmente, considerando-se as quantidades ingeridas, rejeitadas e excretadas, calcula-se o coeficiente de digestibilidade de cada nutriente:

$$CD = \frac{\text{NutrienteIngerido} - \text{NutrienteRe jeitado} - \text{NutrienteExcretado}}{\text{NutrienteIngerido} - \text{NutrienteRe jeitado}} \times 100 \quad (1)$$

Normalmente, para avaliação dos alimentos usa-se o coeficiente de digestibilidade (CD) aparente dos nutrientes, expresso em percentagem. Neste caso, não há distinção entre os nutrientes que aparecem nas fezes, que são provenientes da fração indigerível do alimento daqueles originários do corpo do animal, como enzimas, descamação da mucosa e outras secreções endógenas. Geralmente, nos ensaios de digestibilidade os animais são confinados por um período pré-definido em gaiolas de metabolismo, sendo possível através desta a coleta total de fezes e urina separadamente, evitando assim a contaminação, que pode influenciar o coeficiente de digestibilidade, principalmente da proteína.

A determinação do nitrogênio do alimento ingerido e das excreções do corpo, sob condições controladas, fornece uma medida quantitativa do metabolismo das proteínas (ANDRIGUETTO et al., 1988), assim, o balanço do nitrogênio (BN) torna-se útil na determinação do ganho ou perda deste elemento pelo organismo. Quando a proteína é metabolizada grande parte dos resíduos nitrogenados é eliminada pela urina na forma de uréia e em menor quantidade pelas fezes, embora as perdas pelas excreções dérmicas e da queda de pêlos não têm sido consideradas nos estudos de balanço (ANDRIGUETTO et al., 1988; SILVA; LEÃO, 1979).

O balanço de nitrogênio é calculado através da seguinte equação:

$$BN = NutrienteIngerido - (NutrienteFecal - NutrienteUrinário) \quad (2)$$

Com animais silvestres esta técnica torna-se um pouco mais difícil de ser efetuada devido ao comportamento destes animais. Bernardi (1993) teve extrema dificuldade para manutenção de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) em gaiolas de metabolismo, animal reconhecidamente dócil. Para contornar este problema González-Giménez (1995) recomendou a realização de ensaios nutricionais em

baías. Gallagher, Varner e Grant (1984) e Shively et al. (1985) utilizaram catetos amansados e habituados ao manejo humano em seus ensaios nutricionais. Por sua vez, Nogueira-Filho (2005) determinou coeficientes de digestibilidade mantendo os catetos em baias e retirando as fezes imediatamente após sua excreção.

## **2.6 Produção de gases *in vitro***

Para reduzir custos, acelerar a obtenção de dados e reduzir o estresse animal tem-se utilizado para ruminantes as técnicas de fermentação *in vitro* na avaliação de alimentos. Para este fim, são reproduzidas as condições do ambiente ruminal: pH em torno de 6,9, temperatura de 39°C, anaerobiose, presença de microrganismos e adicionada solução tampão, simulando os processos digestivos que ocorrem no organismo do animal (ANDRIGUETTO et al., 1988).

A fermentação proveniente da ação dos microrganismos no alimento produz gases (metano, gás carbônico e ácidos graxos voláteis) que são diretamente proporcionais ao ataque microbiano, permitindo medir o volume de gás produzido estimando a quantidade de substrato que foi digerido (BUENO, 1998).

Esta técnica para prever o valor nutritivo da dieta, comparada a outras metodologias utilizadas (estimativa de NDT, análise de fibras, digestibilidade *in vitro*, degradabilidade ruminal *in situ*), mostrou ter alta repetibilidade e baixo custo. Permite a análise de muitos materiais de uma única vez, além da possibilidade de conciliar com a determinação de digestibilidade *in vitro* de TILLEY e TERRY modificado (BUENO, 1998). Também é possível a utilização de um sistema semi-automático - *transducer* - que facilita a obtenção direta dos dados de gases produzidos, predizendo o volume de gás acumulado no *head-space* do recipiente utilizado para

incubação, com redução do tempo na avaliação de uma elevada quantidade de amostras (MAURÍCIO et al., 1999).

A metodologia de produção de gases *in vitro* baseia-se na degradação dos alimentos, colocados em garrafas ou seringas de vidro hermeticamente fechadas, imitando a fermentação do rúmen, permitindo além do desaparecimento do material no decorrer do tempo através da quantificação dos resíduos após a incubação, mensurar a formação de gases (metano, gás carbônico e AGV) proveniente da fermentação microbiana durante o processo de degradação, sendo a produção de gases diretamente proporcional à fermentação microbiana do alimento, e ainda eficiente na determinação do valor nutritivo do alimento em comparação a outras metodologias desenvolvidas em laboratórios de nutrição (BUENO, 2002; BUENO et al., 2005).

### 3. DIGESTIBILIDADE *IN VIVO* E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM CATETOS ALIMENTADOS COM DOSES CRESCENTES DE URÉIA

#### Resumo

Uma característica da fisiologia digestiva do cateto (*Pecari tajacu*) é a presença de um pré-estômago, onde ocorre fermentação microbiana. O uso da uréia na dieta destes animais pode ser vantajoso, barateando os custos de produção em cativeiro. Objetivou-se neste trabalho medir a eficiência digestiva de 20 catetos adultos ( $21 \pm 1,9$  kg) nascidos e criados em cativeiro no aproveitamento de doses crescentes de uréia (0; 1,0; 1,5; 2,0%) como fonte de nitrogênio não protéico (NNP) na dieta concentrada, em delineamento inteiramente aleatorizado, formado por cinco ensaios com quatro animais cada. Este estudo foi conduzido em baias experimentais para coleta total de fezes e gaiolas metabólicas para a coleta de urina avaliando a digestibilidade aparente dos nutrientes e balanço de nitrogênio. A utilização da uréia na dieta não causou sinais de intoxicação nos animais e a digestibilidade da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN) não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pelas diferentes doses de uréia. O BN cresceu linearmente ( $P > 0,01$ ) com o incremento das doses de uréia ( $y = 5,33 + 1,81x$ ), apresentando retenção de  $8,95 \text{ g dia}^{-1}$  de N para a maior dose e  $5,22 \text{ g dia}^{-1}$  de N para a dieta sem uréia, não havendo efeito significativo ( $P > 0,01$ ) para as perdas de N fecal e urinário. Estes resultados indicam que o pré-estômago dos catetos foi capaz de utilizar uréia como fonte NNP, podendo substituir parte da proteína dietética em sua alimentação.

**Palavras-chave:** Cateto; *Pecari tajacu*; Uréia; NNP; Digestibilidade aparente; Balanço de nitrogênio.

## **IN VIVO DIGESTIBILITY AND NITROGEN BALANCE IN COLLARED PECCARY FED WITH INCREASING LEVELS OF UREA**

### **Abstract**

A characteristic of the digestive physiology of the collared peccary (*Pecari tajacu*) is the presence of a pre stomach, where may happens microbial fermentation. The use of the urea in the diet of these animals can be advantageous, reducing the production costs when raised in captivity. It was aimed in this work to measure the digestive efficiency of 20 adult collared peccary (21 ±1.9 kg) which were born and raised in captivity, fed with increasing doses of urea (0.0; 1.0; 1.5; 2.0%) as source of non protein nitrogen (NPN) in the concentrated diet. The animals were randomly divided into treatments run in five assays with four animals each. This study was driven in experimental stalls for total collection of feces and metabolic cages for the urine collection for evaluating the apparent digestibility of the nutrients and nitrogen balance (NB). The use of urea in the diet did not cause intoxication signs in the animals and the digestibility of dry matter (DM), crude protein (CP) and neutral detergent fiber (NDF) were not influenced ( $P>0.05$ ) by urea doses. NB increases lineally ( $P>0.01$ ) with the increment of the urea doses ( $y = 5.33 + 1.81x$ ), presenting a retention of 8.95 g day<sup>-1</sup> of N for larger dose and 5.22 g day<sup>-1</sup> of N for the diet without urea, not showing significant effect ( $P>0.01$ ) for the losses of fecal and urinary N. These results show that the pre-stomach of the collared peccary was capable to use urea as source NPN, thus could substitute part of the dietary protein in his/her feeding.

**Keywords:** Collared peccary; *Pecari tajacu*; Urea; NPN; Apparent digestibility; Nitrogen balance.

### 3.1 INTRODUÇÃO

No Brasil e nos demais países da América Latina, a fauna silvestre ainda é uma importante fonte de proteína animal utilizada para a subsistência de populações rurais localizadas em regiões mais afastadas dos centros urbanos. O aproveitamento desses animais, no entanto, está sendo feito através da caça descontrolada que, associada à destruição de habitats, está causando a perda desses recursos naturais (NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997). A criação comercial de animais silvestres é apontada como uma das formas para reverter este processo e auxiliar na conservação destas espécies e de seu habitat (SOWLS, 1997).

O cateto (*Pecari tajacu*) é uma das espécies silvestres que possui um grande potencial zootécnico para criação em cativeiro. Esta espécie sobrevive em diversificadas regiões e se adapta facilmente a diferentes tipos de alimentos (BARRETO et al., 1997; EDDY, 1961; McCOY; VAUGHAN; VILLALOBOS, 1983; NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997; SOWLS, 1984).

Este animal é classificado por alguns autores como uma espécie onívora (BODMER, 1990; EDDY, 1961; KILTIE, 1981; SOLWS, 1984), pois além de ser um animal oportunista em que se alimenta de insetos e pequenos animais, consome também uma grande quantidade de alimentos ricos em fibra alimentar como raízes, tubérculos, frutas e forragens. Esta espécie consegue aproveitar este tipo de alimento devido ao seu trato digestivo composto por um pré-estômago provido por uma câmara fermentativa e dois sacos cegos e o estômago gástrico.

Langer (1979) sugeriu que a digestão em catetos seria semelhante à de um animal ruminante. Posteriormente, Bodmer (1989) mostrou que o pH no pré-estômago ( $6,30 \pm 0,04$ ) e no estômago ( $4,52 \pm 0,70$ ) de catetos seriam semelhantes

ao conteúdo do estômago multicompartimento dos ruminantes; sendo os valores de pH encontrados no pré-estômago de catetos compatíveis com a sobrevivência de bactérias celulolíticas (SOWLS, 1984).

Carl e Brown (1983) encontraram populações de protozoários no pré-estômago de catetos, a maioria do gênero *Entodinia*, os quais *Entodinia caudatum*, sendo encontrado também em menor número protozoários do gênero *Dasytricha*.

A alimentação representa em torno de 80% dos custos de produção de catetos em cativeiro e os suplementos protéicos representam dois terços destes custos (SANTOS, 2003), assim, o conhecimento de aspectos básicos da fisiologia digestiva deste animal contribuirá para o estabelecimento de práticas de manejo alimentar que possibilitem a redução nos custos com a produção desta espécie em cativeiro. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi medir a capacidade dos catetos no aproveitamento da uréia fornecida na dieta como fonte de nitrogênio não protéico.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 Local do estudo e animais experimentais**

O presente experimento foi conduzido nas instalações da Estação Experimental do Almada da Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, no período de setembro de 2007 a março de 2008. Esta unidade experimental está localizada no município de Ilhéus, estado da Bahia. Foram utilizadas baias experimentais individuais de alvenaria com 12 m<sup>2</sup>, piso de concreto, contendo área de exercício (solário) e de cobertura, possuindo comedouro e bebedouro, além de gaiolas metabólicas individuais adaptadas para a contenção de catetos.

As gaiolas foram feitas de metal com 1,5 m de comprimento, 0,8 m de largura e 0,8 m de altura, possuindo piso ripado, tela de separação das fezes e bandeja coletora de urina, comedouro e bebedouro. Nestas gaiolas os animais tinham total liberdade de movimento, amenizando o estresse, o que a diferencia das gaiolas metabólicas tradicionais, onde os animais permanecem presos (Figura 3.1). Tanto as baias como as gaiolas permaneceram inseridas dentro de galpões de alvenaria, com piso de concreto, coberto com telhas de amianto.



Figura 3.1. Gaiola metabólica para catetos

As análises químico-bromatológicas da dieta fornecida aos animais e das amostras experimentais *in vivo* foram determinadas no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – LANA-CENA/ USP, localizado no município de Piracicaba - SP.

Para determinação da digestibilidade dos nutrientes e do balanço de nitrogênio foram utilizados 20 catetos adultos, machos, nascidos e criados em cativeiro na Estação Experimental do Almada - UESC, com peso médio de  $21,0 \pm 1,9$  kg. Foram formados cinco grupos de animais com idade e peso homogêneos.

### 3.2.2 Dieta experimental

A fim de mensurar os efeitos das doses crescentes de uréia como fonte de nitrogênio não protéico foi fornecida aos animais uma dieta farelada com 15% de proteína digestiva (PD), à base de milho triturado (67,5%), farelo de trigo (9,5%), farelo de soja (21%), suplemento mineral<sup>1</sup> (0,8%), suplemento vitamínico (0,2%) e sal comum (1,0%). A esta dieta foram estabelecidos quatro doses diferentes de uréia: 0,0; 1,0; 1,5 e 2,0%.

Durante o período de adaptação de 10 dias, a quantidade da dieta diária oferecida foi *ad libitum*, sendo as sobras pesadas para determinar o consumo voluntário individual dos animais. Desta forma, o fornecimento da uréia alimentar foi proporcional ao consumo de matéria seca (MS) da dieta para cada animal, sendo a quantidade de 10 g de uréia para o maior tratamento ou dose (2,0%). A maior dose para catetos foi definida em função do máximo consumo de uréia por dia (50 g) para um ruminante de 100 kg de peso vivo (Tabela 3.1). A água foi fornecida *ad libitum*.

Tabela 3.1 - Quantidade de uréia fornecida aos catetos proporcional ao consumo da dieta experimental.

Consumo da dieta (g dia <sup>-1</sup> )	Quantidade de uréia (g dia <sup>-1</sup> )			
	T1 (0,0 %)	T2 (1,0 %)	T3 (1,5 %)	T4 (2,0 %)
100	0	1,0	1,5	2,0
:	:	:	:	:
:	:	:	:	:
500	0	5,0	7,5	10,0

<sup>1</sup> Composição: Vitamina A, Vitamina D<sub>3</sub>, Vitamina E, Calcário Calcítico, Fósforo Bicálcico, Óxido de Magnésio, Enxofre Ventilado (Flor de Enxofre), Cloreto de Sódio (Sal comum), Sulfato Ferroso, Sulfato de Cobre, Sulfato de Manganês, Óxido de Zinco, Iodato de Cálcio, Selenito de Sódio, Sulfato de Cobalto, Antioxidante, Melão de Cana em Pó, Caulim.

A dieta amostrada durante o período experimental foi submetida às análises químico-bromatológicas, sendo elas a matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB), determinadas conforme a Association of Official Analytical Chemists – A.O.A.C. (1995). A fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) analisadas conforme Van Soest, Roberson e Lewis (1991) (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 - Composição proximal na matéria seca da dieta experimental fornecida aos catetos.

Nutrientes	Dieta Experimental
Matéria seca, %	87,0
Matéria orgânica, % MS	95,6
Proteína bruta, % MS	17,1
Fibra em detergente neutro, % MS	15,6
Fibra em detergente ácido, % MS	6,5
Matéria mineral, % MS	4,4
Energia bruta*, kcal kg <sup>-1</sup>	3859,5

\* Estimado de acordo com Rostagno (2005)

### 3.2.3 Condução do experimento

Para avaliação dos níveis crescentes de uréia, foram realizadas cinco seqüências de tratamentos ou ensaios, com quatro animais e um período médio de 27 dias para cada. Foi atribuído um intervalo em torno de uma semana entre os ensaios, a fim de preparar as condições experimentais para o próximo ensaio. Em cada ensaio, os animais foram pesados e receberam tratamento contra endoparasitos através de evermifugação oral à base de febendazole, na dosagem

de 4,0 g kg<sup>-1</sup> de peso vivo, sendo então colocados nas baias experimentais, que foram previamente limpas e higienizadas.

Durante um período de adaptação de 15 dias às novas condições ambientais, foi fornecida a dieta experimental *ad libitum* uma única vez ao dia às 16:00 h, aumentando gradativamente diariamente (1,0 g dia<sup>-1</sup>) a quantidade de uréia até atingir a percentagem estabelecida para cada tratamento (0,0; 1,0; 1,5 e 2,0 %), a partir do consumo individual da dieta (Tabela 3.1).

Após o período de adaptação, os animais começaram a receber a dieta com a percentagem de uréia estabelecida, sendo realizada a coleta total de fezes durante três dias consecutivos. No quarto dia os animais foram colocados em gaiolas metabólicas, permanecendo por um período de 24 horas para a coleta de urina. Em seqüência, os animais retornaram para as baias e, depois de estabelecido o consumo, foi realizada coleta total de fezes por mais dois dias consecutivos, retornando, no dia seguinte, para as gaiolas metabólicas por mais um período de 24 horas para uma segunda coleta de urina. Durante este período amostras da dieta e de eventuais sobras da dieta experimental, foram diariamente recolhidas, pesadas e armazenadas a - 20°C, para análise posterior.

#### **3.2.4 Coleta e preparo das amostras**

As amostras fecais coletadas foram pesadas e, a cada coleta, metade do volume foi colocado em sacos plásticos identificados e armazenados em congelador à temperatura de -20°C, para análise posterior. Todas as amostras das fezes, da dieta e das sobras da dieta, após passarem por secagem em estufa com ventilação

forçada a 60°C, por 72 horas, foram trituradas em moinho *Wiley* com peneira de um milímetro e posteriormente analisadas.

A urina de cada animal foi recolhida em recipiente de vidro colocados sob a bandeja coletora da gaiola metabólica, contendo cinco mL de ácido sulfúrico (10%) para evitar sua evaporação e a volatilização da amônia, sendo amostrado 20% do volume total, que foi identificado e armazenado em recipiente de plástico a -20°C para determinação posterior de nitrogênio.

Os nutrientes presentes na dieta oferecida aos animais e nas amostras experimentais (sobras alimentares, fezes e urina) foram determinados e estes dados utilizados para determinação da digestibilidade aparente (Equação 1) dos nutrientes e do balanço de nitrogênio (Equação 2).

### **3.2.5 Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado neste experimento foi de distribuição inteiramente aleatória, no qual as possíveis seqüências dos tratamentos (doses de uréia: T1= 0,0; T2= 1,0; T3= 1,5; T4= 2,0 %) foram atribuídas aleatoriamente em cada ensaio (ensaios no tempo), sendo formado por cinco ensaios com quatro animais cada.

Modelo matemático:

$$y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij} \begin{cases} i = 1, 2, \dots, I \\ j = 1, 2, \dots, n \end{cases}$$

Onde:  $y_{ij}$ : valor observado no ensaio que recebeu o  $i$ -ésimo tratamento na  $j$ -ésima repetição;

$\mu$ : média da população sem considerar o efeito do tratamento;

$t_i$ : é o efeito do  $i$ -ésimo tratamento;

$e_{ij}$ : efeito devido aos fatores não controlados no  $i$ -ésimo tratamento na  $j$ -ésima repetição.

Os dados foram submetidos à análise de regressão para verificação da digestibilidade dos nutrientes e balanço de nitrogênio em função das diferentes doses de uréia, com o auxílio do software SAS (Statistical Analysis System 6.11, 1997).

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A introdução da uréia à dieta do cateto foi feita de forma gradativa, sendo misturada à dieta experimental de forma homogênea. Durante todo experimento não foi observado nos catetos sinais de intoxicação. Os animais não apresentaram sinais como uma estagnação seguida de inquietação ou agitação, salivação excessiva, respiração rápida ou ofegante (dispnéia), regurgitação da ingesta, tremores musculares, apatia e falta de coordenação; sinais estes descritos por Silva e Leão (1979) como sintomas de intoxicação em ruminantes. Por outro lado, para os animais que receberam uréia, nas proporções de 1,0; 1,5 e 2,0 % apresentaram considerável ganho de peso ( $P>0,05$ ) (19,63, 17,13 e 20,00 g dia<sup>-1</sup>) ao dos animais do tratamento testemunha (11,6 g dia<sup>-1</sup>).

O consumo médio voluntário (335,5, 349,1, 376,9, 360,2 g MS dia<sup>-1</sup>) não apresentou diferença significativa ( $P>0,05$ ) para as doses crescentes de uréia (0,0, 1,0, 1,5, 2,0%), respectivamente, sendo o menor valor o consumo para a dieta sem uréia enquanto o maior consumo voluntário foi verificado para a dieta com 1,5% de uréia. Durante o experimento o consumo voluntário foi mais baixo do que o esperado, pois animais com peso vivo médio de 21 kg consumiriam em torno de 500 g de concentrado dia<sup>-1</sup>, aproximadamente 2,5% do PV (NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997).

Um dos fatores que pode ter afetado o consumo alimentar foi o estresse. Estes animais vivem em grupos estáveis (SOWLS, 1997) e os utilizados neste experimento originalmente eram mantidos em grupos de três a cinco animais. Para o estudo, no entanto, foram mantidos em baias individuais e o isolamento social deve ter interferido no consumo.

A metodologia para determinação da digestibilidade e balanço nitrogenado neste experimento, no qual manteve os catetos em baias para a coleta de fezes e em gaiolas metabólicas durante 24 h para a coleta de urina, foi adotada devido a não adaptação dos animais experimentais à permanência constante em gaiolas metabólicas. Quando nas gaiolas, o consumo alimentar era muito baixo, alguns animais simplesmente recusaram-se a comer, enquanto outros machucaram-se na tentativa de fugir.

Vários autores executaram seus estudos com catetos, utilizando gaiolas metabólicas (CARL; BROWN, 1985; CARL; BROWN, 1986; COMIZZOLI et al., 1997; GALLAGHER; WARNER; GRANT, 1984; SHIVELY et al., 1985). Para conseguir coletar os dados Shively et al. (1985) relatam que utilizaram animais jovens e amansados através de aleitamento artificial, enquanto Nogueira-Filho (2005) coletou

seus dados em baias como as do presente estudo, os demais autores não comentam como contornaram os problemas encontrados.

Bernardi (1993) trabalhando com capivaras, também recomendou o uso de baias adaptadas para a coleta de fezes, uma vez que manter capivaras em gaiolas metabólicas afetava a coleta de dados.

Neste experimento a adoção da prática de manter os catetos em gaiolas metabólicas em períodos curtos levou à redução nas tentativas de fuga e ferimentos e possibilitou a coleta de urina dos mesmos. Sugerimos a metodologia adotada, portanto, como uma adaptação que deve ser recomendada para a coleta de amostras de animais silvestres em estudos nutricionais.

### **3.3.1 Digestibilidade *in vivo*: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN)**

Os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pela adição da uréia na dieta de catetos (Tabela 3.3).

Os coeficientes de digestibilidade de nutrientes determinados neste experimento apresentaram diferenças em relação a estudos anteriores com catetos. Enquanto a digestibilidade da matéria seca foi maior do que a determinada em catetos por Gallagher et al. (1984), Nogueira-Filho (2005) e Shively et al. (1985), a digestibilidade de proteína bruta foi inferior aos determinados por Carl e Brown (1986), Gallagher et al. (1984), Nogueira-Filho (2005). Em relação a digestibilidade da fibra em detergente neutro para alguns estudos os coeficientes de digestibilidade desta fração fibrosa foi maior (COMIZZOLI et al., 1997; NOGUEIRA-FILHO, 2005;

SHIVELY et al., 1985) enquanto para outros foi menor (CARL; BROWN, 1986; GALAGHER et al., 1984).

Tabela 3.3 - Efeito das doses de uréia na dieta de catetos sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN).

Variável	Doses de uréia (%)				CV (%)	Efeito de ordem <sup>1</sup>	
	0,0	1,0	1,5	2,0		L	Q
	Coeficiente Digestibilidade					Valor de <i>P</i>	
MS	0,819	0,824	0,786	0,806	2,10	0,4697	0,9911
PB	0,651	0,728	0,673	0,715	5,18	0,1301	0,3900
FDN	0,629	0,641	0,607	0,594	3,43	0,2793	0,4201

<sup>1</sup> Efeitos de ordem linear (L) e quadrática (Q) relativos as doses de uréia na dieta  
CV = Coeficiente de variação (%)

A eficiência da digestão de alimentos volumosos pelos catetos é semelhante à de animais ruminantes (NOGUEIRA-FILHO, 2005). Possivelmente, o baixo teor de fibra em detergente neutro na dieta testada pode explicar o menor aproveitamento da mesma em relação a alguns estudos e a não alteração no aproveitamento da fração fibrosa pelos catetos com a adição de uréia. O fato da dieta testada ser rica em carboidratos solúveis pode ter favorecido o desenvolvimento de microrganismos amilolíticos em detrimento dos celulolíticos, sendo os primeiros beneficiados ainda mais em função do fornecimento de uma fonte adicional de nitrogênio à dieta.

### 3.3.2 Balanço de nitrogênio (BN)

O valor de N excretado na urina e nas fezes não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pelas doses de uréia na dieta (Tabela 3.4).

Os níveis de nitrogênio consumidos foram superiores aos exigidos para a manutenção de catetos. No tratamento sem uréia os catetos consumiram em média 1,1 g N kg<sup>-1</sup> PM enquanto no maior nível de uréia o consumo foi de 1,6 g N kg<sup>-1</sup> PM, valores superiores aos exigidos (0,85 g N kg<sup>-1</sup> PM) para sua manutenção (CARL; BROWN, 1985).

Tabela 3.4 - Efeito das doses de uréia na dieta de catetos para as médias de nitrogênio consumido, fecal, urinário e do BN.

Variável	Doses de uréia (%)				CV (%)	Efeito de ordem <sup>1</sup>	
	0,0	1,0	1,5	2,0		L	Q
	Nitrogênio (g dia <sup>-1</sup> )					Valor de P	
N consumido <sup>2</sup>	10,77	13,18	15,24	15,67	16,37	0,0001	0,7649
N fecal	3,70	3,60	4,99	4,48	15,79	0,0785	0,8190
N urinário	1,61	2,09	2,41	2,24	16,42	0,1591	0,6244
BN <sup>3</sup>	5,22	7,49	7,84	8,95	21,26	0,0001	0,7153

<sup>1</sup> Efeitos de ordem linear (L) e quadrática (Q) relativos as doses de uréia na dieta

<sup>2</sup>  $y = 10,8 + 2,59x$  ( $R^2 = 0,97$ )

<sup>3</sup>  $y = 5,33 + 1,81x$  ( $R^2 = 0,98$ )

CV = Coeficiente de variação (%)

Para as quatro doses de uréia avaliadas o balanço de nitrogênio foi positivo. Os catetos excretaram menos nitrogênio do que o consumido, e a retenção de nitrogênio cresceu linearmente ( $P > 0,01$ ) com o incremento das doses de uréia na dieta ( $y = 5,33 + 1,81x$ , Fig. 3.2). Assim, o maior valor de N retido foi de 8,95 g dia<sup>-1</sup> e o menor valor foi de 5,22 g dia<sup>-1</sup>, com a maior e a menor dose de uréia na dieta, respectivamente. As perdas de N fecal e urinário não diferiram para as diferentes doses de uréia (Tabela 3.4), o que indica que os animais foram capazes em reter uma parte do N de origem microbiana gerada a partir da utilização da uréia pela flora microbiana presente no pré-estômago dos catetos.

O comportamento do BN associado a um considerável ganho de peso ( $P > 0,05$ ) para os tratamentos com a adição de uréia em relação à testemunha ( $11,63 \text{ g dia}^{-1}$ ) e, além de não manifestar sinais de intoxicação, mostra a eficiência da utilização da uréia como fonte de nitrogênio não protéico pelos catetos.

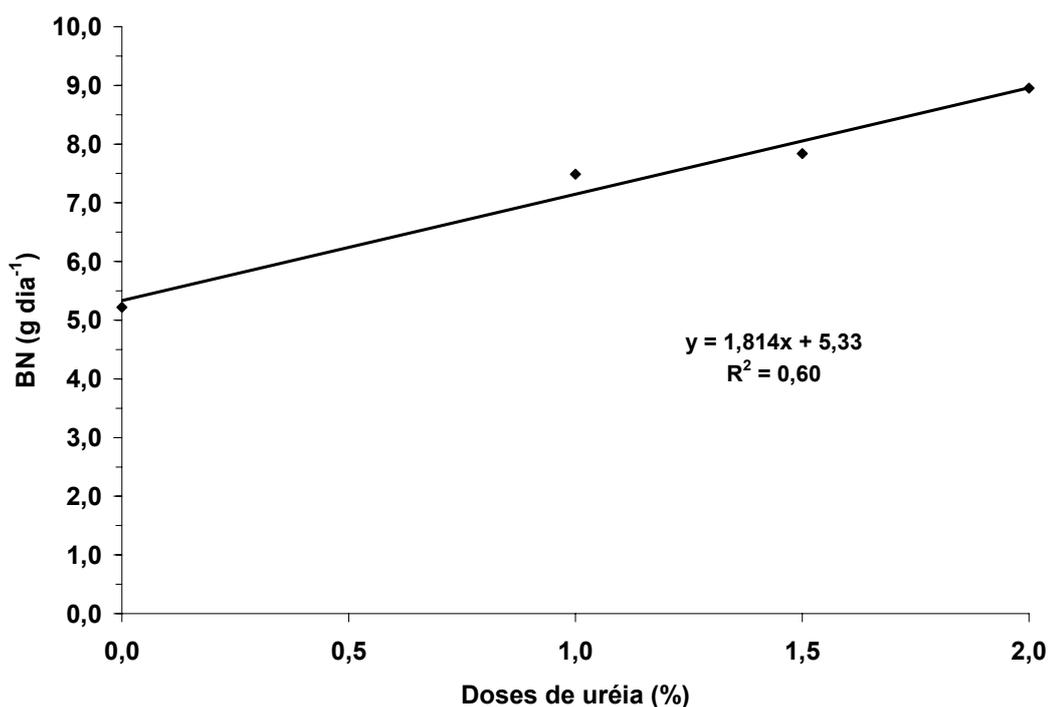


Figura 3.2 – Regressão linear entre o BN e diferentes doses de uréia na dieta de catetos.

O baixo nível de consumo voluntário, contudo, pode ter afetado os resultados obtidos. O consumo médio da dieta foi de apenas  $355 \text{ g MS dia}^{-1}$ , que resultou em uma ingestão de  $7,1 \text{ g de uréia dia}^{-1}$ , equivalente a uma média de  $33 \text{ g de uréia por } 100 \text{ kg de peso vivo}$ . Era esperado um consumo próximo de  $500 \text{ g dia}^{-1}$  ( $10 \text{ g de uréia dia}^{-1}$ ), equivalente a  $50 \text{ g por } 100 \text{ kg de peso vivo}$ , nível máximo recomendado de adição de uréia para bovinos (FARIA; PEIXOTO; MOURA, 1984). Estes dados

sugerem que é possível a utilização e o aproveitamento de doses de uréia acima das testadas no presente estudo.

A comparação dos resultados obtidos com os existentes na literatura confirmam a utilização da uréia pelos catetos. Os valores para nitrogênio retido (BN) neste experimento com  $5,22 \text{ g dia}^{-1}$  para o tratamento sem uréia contendo 17,0% de PB e BN de  $8,95 \text{ g dia}^{-1}$  para o maior tratamento (2,0%) com 21,6% de PB, foram similares aos determinados por Carl e Brown (1985). Estes autores determinaram valores para BN de  $5,65 \text{ g dia}^{-1}$  para dieta contendo 18,4 % PB e BN de  $9,88 \text{ g dia}^{-1}$  para dieta contendo 22,8% PB. Como no presente experimento a retenção de nitrogênio foi obtida com a adição de NNP na dieta, em vez de proteína dietética de custo mais elevado, é possível inferir que há efetiva utilização de uréia (NNP) pelos catetos e que esta pode substituir a proteína dietética, barateando os custos de produção destes animais em cativeiro.

A adição de uréia pode incrementar o aproveitamento de alimentos volumosos pelos catetos. Comizzoli et al. (1997) testando dietas para catetos com níveis superiores de fibra (63,0 e 66,1% FDN), determinaram retenção de N de 2,97 e  $4,25 \text{ g dia}^{-1}$ , respectivamente, usando dietas com 17,5% PB. No presente experimento a dieta com dose de 1,0% de uréia, que continha o nível protéico mais próximo do testado por Comizzoli et al. (1997), mas com apenas 15,6% FDN, apresentou uma retenção de N até 2,5 vezes superior aos obtidos por estes autores. Estes resultados mostram que a utilização de uréia pode ser ainda mais vantajosa com a utilização de níveis elevados de fibra na dieta de catetos.

### 3.4 CONCLUSÕES

O balanço de nitrogênio nos catetos foi positivo e crescente com o incremento das doses de uréia na dieta, sugerindo que estes animais foram capazes em reter uma parte do nitrogênio de origem microbiana gerada a partir da utilização da uréia pela flora microbiana presente no pré-estômago.

O comportamento do balanço de nitrogênio associado a um considerável ganho de peso, além de não manifestar sinais de intoxicação, mostra uma possível eficiência da utilização da uréia como fonte de nitrogênio não protéico pelos catetos, podendo substituir parte da proteína dietética, barateando os custos de produção destes animais em cativeiro.

#### 4 AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA FERMENTAÇÃO MICROBIANA EM CATETOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PRODUÇÃO DE GASES UTILIZANDO DOSES CRESCENTES DE URÉIA ALIMENTAR

##### Resumo

Com a presença de um pré-estômago formado por dois sacos cegos em seu trato digestivo, além da presença de uma bolsa gástrica, a digestão em catetos pode ser semelhante à de um ruminante. A utilização da técnica de produção de gases *in vitro* utilizando o conteúdo do pré-estômago dos catetos como inóculo, simulando os processos digestivos, permite avaliar se há fermentação pré-gástrica neste animal. Objetivou-se neste trabalho avaliar a eficiência da microbiota do pré-estômago de catetos em proceder à fermentação anaeróbica da dieta, através da técnica de produção de gases em delineamento com distribuição inteiramente aleatório em arranjo fatorial 4 X 2, no qual foram utilizados quatro doses de uréia (0,0; 1,0; 1,5; 2,0%) como fonte de nitrogênio não protéico (NNP), duas fontes de inóculo (espécie animal cateto e ovino) e cinco repetições. Durante a incubação houve produção de gases utilizando inóculo de cateto ( $197 \text{ mL g}^{-1} \text{ MS}$ ), contudo essa produção de gases não apresentou correlação com os tratamentos (doses de NNP adicionado). A digestibilidade da MS (MSD), MO (MOD) e FDN (FDND) e a produção de gases em função MSD, MOD e FDND apresentaram diferença significativa ( $P < 0,01$ ) para os tratamentos, havendo aumento linear ( $P > 0,01$ ) para digestibilidade de FDN ( $R^2 = 0,50$ ) e regressão linear inversa para produção de gases em função da FDND ( $R^2 = 0,51$ ) para inóculo de cateto. A produção de gás metano em função da MS, MO, MSD e MOD utilizando inóculo de cateto, apresentou diferença significativa ( $P < 0,01$ ) para os tratamentos, porém com baixo coeficiente de correlação ( $r < 0,70$ ) entre as doses crescentes de uréia. A produção de gases mostrou que a dieta concentrada foi degradada devido à presença de microrganismos no inóculo de cateto.

**Palavras-chave:** Cateto; *Pecari tajacu*; Uréia; NNP; Digestibilidade *In vitro*; Produção de gases.

## **IN VITRO EVALUATION OF MICROBIAL FERMENTATION OF COLLARED PECCARY THROUGH THE GAS PRODUCTION TECHNIQUE USING INCREASING DOSES OF UREA**

### **Abstract**

Due to the presence of a fore-stomach formed by two blind sacs in its digestive tract, besides the presence of a gastric bag, the digestion in collared peccaries may resemble that of a ruminant. The use of the gas production technique *in vitro* using in the fore-stomach contents of the collared peccary as inoculum, simulating the digestive processes, allows the evaluation if exist fore-gastric fermentation this animal. The objective of this study is to evaluate the efficiency of collared peccary fore-stomach microbial flora in proceed to anerobic fermentation of diet, using the *in vitro* gas production technique at different urea doses the experimental design used had an entirely randomized distribution, resulting in a 4 x 2 factorial experiment, in which four urea doses, and two sources of inoculum (collared peccary and sheep), and five replications. During incubation, there was gas production using the collared peccary inoculum (197 mL g<sup>-1</sup> DM); however this is gas production there was no correlation with the treatments (additon doses of NPN). The DM (DMD), OM (OMD) and NDF (NDFD) digestibility and gas production as a function of DMD, OMD and NDFD showed a significant difference (P<0.01) for the treatments, showing a linear increase (P>0.01) in NDF digestibility (R<sup>2</sup> = 0.50) and inverse linear regression for gas production as a function of NDFD (R<sup>2</sup> = 0.51). Methane gas production as a function of DM, OM, DMD, and OMD using peccary fore-stomach inoculum showed significant difference (P<0.01) for the treatments, but with a low correlation coefficient between increasing doses of urea. The gas production showed that concentrated diet was degraded because of microorganisms presents in the collared peccary inoculum.

**Keywords:** Collared peccary; *Pecari tajacu*; Urea; NPN; *In vitro* Digestibility; Gas production.

## 4.1 INTRODUÇÃO

A utilização racional da fauna silvestre pode resultar em vantagens econômicas e sociais, e ao mesmo tempo auxiliar no processo de conservação das espécies silvestres, tendo a criação comercial destes animais como uma das opções para atingir estes objetivos. Segundo Nogueira-Filho e Nogueira (2000), espera-se com esta atividade atender à demanda tanto de carne quanto dos demais produtos destes animais e, desta forma, diminuir a caça ilegal, sendo esta atividade especialmente recomendada para aquelas regiões onde o desenvolvimento de uma pecuária tradicional é limitado pelas condições ambientais locais.

Entre as espécies silvestres brasileiras que apresentam potencial zootécnico tanto para a produção de carne quanto couro, destaca-se o cateto (*Pecari tajacu*) conhecido também como caititu ou porco do mato. Mamífero pertencente à ordem *Artiodactyla*, subordem *Suiforme* e à família *Tayassuidae*. Este animal sobrevive em diversificadas regiões e se adapta facilmente a diferentes tipos de alimentos (BARRETO; HERNANDEZ; OJASTI, 1997; EDDY, 1961; McCOY; VAUGHAN; VILLALOBOS, 1983; NOGUEIRA-FILHO; LAVORENTI, 1997; SOWLS, 1984), reproduzindo o ano todo e vivendo em grupos sociais (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 2004).

Esta espécie tem uma anatomia digestiva diferenciada possuindo um pré-estômago formado por dois sacos cegos, além do estômago gástrico. Estudos corroboram para a presença de uma câmara fermentativa neste pré-estômago, com pH próximo dos valores do rúmen em bovinos (BODMER, 1989; LOCHMILLER et al., 1989; SOWLS, 1997), existência de algumas populações de protozoários (CARL; BROWN, 1983) e concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV) (LOCHMILLER et

al., 1989), além de uma capacidade em realizar digestão de alimentos volumosos, aproveitando os carboidratos estruturais da dieta (COMIZZOLI et al., 1997; NOGUEIRA-FILHO, 2005).

Esta capacidade fermentativa pode permitir a suplementação de fontes de nitrogênio não protéico (NNP) na dieta dos catetos, como por exemplo, a uréia alimentar, utilizada na alimentação de grandes fermentadores pré-gástricos como os bovinos, a fim de reduzir os custos de produção desta espécie.

A técnica *in vitro* de produção de gases baseia-se na degradação dos alimentos pelos microrganismos ruminais, permitindo mensurar o desaparecimento do material, através dos resíduos após a incubação, tornando-se possível também a medição dos gases decorrentes da ação microbiana durante o processo de degradação (BUENO, 2002), que quando medidos em intervalos de tempo descreve a cinética de fermentação, possibilitando a determinação da degradabilidade da matéria seca e orgânica (THEODOROU et al., 1994).

A metodologia de produção de gases com o uso de um *transducer*, sistema semi-automático descrito por Maurício et al. (1999) utilizado para medir os gases produzidos, facilita a medição dos dados com uma considerável redução do tempo na avaliação de uma elevada quantidade de amostras.

Bueno et al. (1999) e Furtado et al. (2004) utilizaram diferentes inóculos para adaptar a técnica de produção de gases *in vitro* utilizada no LANA-CENA/ USP (Bueno et al., 2005) na avaliação de alimentos para ovinos e cavalos, assim sendo foi adaptada a técnica de produção de gases *in vitro* para avaliar a fermentação pré-gástrica em catetos, utilizando um substrato (dieta concentrada) acondicionado em meio anaeróbio incubado com conteúdo do pré-estômago (inóculo) composto por microrganismos, simulando a fermentação ruminal.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a fermentação microbiana na presença de doses crescentes de uréia alimentar na dieta através do uso da técnica de produção de gases *in vitro* utilizando como inóculo o conteúdo do pré-estômago de catetos.

## **4.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.2.1 Local do estudo e animais experimentais**

O presente experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal – LANA, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA, da Universidade de São Paulo – USP, localizado no município de Piracicaba - SP, onde foram utilizadas baias experimentais, uma para cada espécie animal: cateto e ovino (*Ovis aries*); com 15 m<sup>2</sup>, piso de concreto, possuindo comedouro e bebedouro, inseridas dentro de um galpão de alvenaria coberto com telhas de fibrocimento. Nos laboratórios do LANA, foram determinadas as análises químico-bromatológicas da dieta fornecida aos animais e das amostras experimentais.

Para aplicação da técnica de produção de gases na avaliação *in vitro* da fermentação microbiana foram sacrificados cinco catetos adultos para coleta do conteúdo (inóculo) do pré-estômago. Todos os animais eram machos, nascidos e criados em cativeiro, com peso médio de 22,1 ±1,96 kg, autorizados ao abate, adquiridos do criadouro científico e comercial da Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, localizado no município de Ilhéus, Bahia, possuidora de registro junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Foram utilizados também dois ovinos machos adultos, castrados, da raça

Santa Inês, providos de cânula ruminal, do qual foi retirado o conteúdo do rúmen (inóculo) para comparação e estimativa da síntese de nitrogênio microbiano *in vitro*.

#### 4.2.2 Dieta experimental

A fim de avaliar a fermentação microbiana mensurando os efeitos de doses crescentes de uréia (0,0; 1,0; 1,5 e 2,0 %) como fonte de nitrogênio não protéico, foi fornecido aos animais, uma dieta concentrada com 15% de proteína digestível (PD), à base de milho triturado (67,5%), farelo de trigo (9,5%), farelo de soja (21%), suplemento mineral<sup>2</sup> (0,8%), suplemento vitamínico (0,2%) e sal comum (1,0%).

A quantidade da dieta diária oferecida para aos catetos foi de 500 g animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, sendo o fornecimento da uréia alimentar na proporção de 2,0% da quantidade da dieta oferecida, ou seja, 10 g de uréia para cada animal, definido em função do máximo consumo de uréia por dia (50 g) para um ruminante de 100 kg de peso vivo.

Para os ovinos, foi oferecida a mesma dieta concentrada na quantidade de 300 g animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, além de feno de capim coast cross (*Cynodon dactylon*) *ad libitum*. O fornecimento da uréia alimentar também foi na proporção de 2,0% da quantidade da dieta oferecida. A água foi fornecida *ad libitum* para as duas espécies animais.

A dieta amostrada durante o período experimental foi submetida às análises químico-bromatológicas, sendo a determinação da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB) conforme a Association of Official Analytical Chemists - A.O.A.C. (1995). A fibra em detergente ácido (FDA) e

---

<sup>2</sup> Composição: Vitamina A, Vitamina D<sub>3</sub>, Vitamina E, Calcário Calcítico, Fósforo Bicálcico, Óxido de Magnésio, Enxofre Ventilado (Flor de Enxofre), Cloreto de Sódio (Sal comum), Sulfato Ferroso, Sulfato de Cobre, Sulfato de Manganês, Óxido de Zinco, Iodato de Cálcio, Selenito de Sódio, Sulfato de Cobalto, Antioxidante, Melaço de Cana em Pó, Caulim.

fibra em detergente neutro (FDN) analisada conforme Van Soest, Roberson e Lewis (1991), cujos resultados são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Composição proximal na matéria seca da dieta experimental fornecida aos animais.

Nutrientes	Dieta Experimental
Matéria seca, %	90,5
Matéria orgânica, % MS	95,6
Proteína bruta, % MS	16,2
Fibra em detergente neutro, % MS	14,7
Fibra em detergente ácido, % MS	6,0
Matéria mineral, % MS	4,5
Energia bruta*, kcal kg <sup>-1</sup>	3859,5

\* Estimado de acordo com Rostagno (2005)

#### 4.2.3 Condução do experimento

No período de adaptação de 15 dias às novas condições ambientais, foi fornecida, aos cinco catetos, a dieta experimental (500 g animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) em uma única vez ao dia (03:00 h), aumentando gradativamente a quantidade de uréia até atingir o maior tratamento (10 g dia<sup>-1</sup>). O horário do fornecimento da dieta foi definido segundo Gomes<sup>3</sup> (comunicação pessoal), que, em ensaio experimental, sugere o abate dos catetos em torno de cinco a seis horas após o consumo da dieta, não ocorrendo a possibilidade do pré-estômago apresentar pouco conteúdo.

Durante o mesmo período foi fornecido aos ovinos a dieta experimental (300 g animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) e o feno (*ad libitum*) uma única vez ao dia, respeitando o horário de

<sup>3</sup> Eduardo Gomes (Mestrando) - Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, Ilhéus-BA.

manejo dos animais (16:00 h). A uréia foi fornecida gradativamente até a quantidade máxima de  $6 \text{ g dia}^{-1}$  (2% do consumo).

#### **4.2.4 Coleta do inóculo**

Após o período de adaptação, a coleta do conteúdo do pré-estômago (inóculo) de cada cateto foi obtida a partir do sacrifício dos mesmos. O animal após imobilização com ajuda de um “puçá”, foi sensibilizado utilizando descarga elétrica de 220 volts, procedendo-se a sangria. No trato digestivo foram feitas amarrações entre o pré-estômago e estômago glandular, entre o esôfago e o pré-estômago (esfíncter esofágico inferior) e entre o estômago glandular e o duodeno (esfíncter pilórico). Todo o estômago foi removido e colocado em estufa ventilada a temperatura de  $39^{\circ}\text{C}$ . Após o último abate, todos os conteúdos dos pré-estômagos foram coletados e acondicionados individualmente em sacos plásticos identificados, vedados para garantir anaerobiose, pesados e levados imediatamente em caixa de isopor para o laboratório.

Para os ovinos, as frações líquida e sólida do conteúdo ruminal, foram coletadas através da cânula no rúmen e acondicionadas, respectivamente, em garrafa térmica pré-aquecida a  $39^{\circ}\text{C}$  e saco plástico inserido em caixa de isopor e, rapidamente levadas para o laboratório. Foi utilizada uma sonda para a coleta da fração líquida e uma pinça tenaz para a coleta da fração sólida.

O pH de cada conteúdo foi medido após as coletas.

#### **4.2.5 Preparo do inóculo**

Com os cinco conteúdos dos pré-estômagos dos catetos foram obtidos dois inóculos: A e B, compostos pela mistura de dois conteúdos e meio para cada inóculo. A partir do conteúdo ruminal de cada ovino foram obtidos os inóculos: C e D

Cada inóculo (A e B) foi homogeneizado em liquidificador por 10 segundos para recuperação dos microrganismos que aderem à fração sólida do alimento, sendo posteriormente filtrados em tecido de algodão e mantidos em recipientes de vidro em banho-maria a 39°C com dióxido de carbono insuflado sobre a solução continuamente, a fim de manter as condições anaeróbicas. Para os ovinos a fração líquida coletada foi misturada com a fração sólida na mesma proporção (1:1) antes de serem homogeneizados no liquidificador e procedimento semelhante ao descrito para o conteúdo do pré-estômago dos catetos.

#### **4.2.6 Produção de gases**

Em garrafas de vidro de 160 mL previamente identificadas foram colocados 1 g de substrato (dieta oferecida aos animais, seca e moída em peneira de 2 mm), 90 mL de solução nutritiva e 10 mL de cada inóculo, conforme Bueno et al. (2005), além das percentagens de uréia respectiva a cada tratamento (0,000; 0,010; 0,015; 0,020 g) em relação a quantidade de substrato. As garrafas foram vedadas com rolhas de borracha, homogeneizadas e incubadas em estufa ventilada a 39°C. Para cada inóculo (A, B, C e D) foram preparadas 23 garrafas, sendo cinco garrafas para cada tratamento (0,0; 1,0; 1,5 e 2,0 % de uréia) e três garrafas sem a presença do substrato (branco), totalizando 92 garrafas.

A pressão dos gases produzidos em cada garrafa foi obtida com o auxílio de um medidor de pressão (*transducer* - modelo PDL800 – LANA-CENA/ USP), conforme proposto por Theodorou et al. (1994). A incubação foi mantida durante um período de 24 horas e a medida da produção dos gases foi feita em diferentes horários: 0, 2, 4, 6, 8, 12 e 24 horas após a inoculação. Deste modo, o volume (mL) de gases produzidos (psi) foi estimado através da equação:  $V=0,1171p^2+4,7659p$  (NOZELLA, 2006) , onde p é a pressão medida em psi.

Após cada horário de leitura da produção de gases foi armazenada uma alíquota de gás em tubos de ensaio previamente submetidos a vácuo, formando um *pool* (24 h), utilizado para determinação do gás metano através do cromatógrafo gasoso CG – 2014 GAS CHROMATOGRAPH (Shimadzu).

Após 24 h de incubação foi encerrada a fermentação microbiana colocando as garrafas em bandejas contendo gelo. Para cada inóculo, o conteúdo de duas garrafas foi tratado com detergente neutro, filtradas e o resíduo incinerado por oito horas em forno tipo mufla a 500 °C para determinação da matéria orgânica verdadeiramente degradada.

#### **4.2.7 Delineamento experimental e análise estatística**

Para avaliar a produção acumulada de gases foi utilizado o delineamento inteiramente aleatorizado em esquema de parcelas subdividida utilizando inóculo de duas espécies animais (cateto e ovino), quatro doses de uréia (Tratamentos: 0,0; 1,0; 1,5; 2,0 %) e cinco repetições.

Modelo matemático:

$$y_{ik} = \mu + a_i + S_{ik} + b_j + (ab)_{ij} + e_{ijk} \quad (1)$$

onde,  $y_{ik}$ : valor da parcela que recebeu o  $i$ -ésimo nível do fator A,  $k$ -ésimo nível do fator B em que está na  $k$ -ésima parcela;

$\mu$ : média geral;

$a_i$ : efeito do  $i$ -ésimo nível de A;

$b_j$ : efeito do  $j$ -ésimo nível de B;

$S_{ik}$ : efeito de  $k$ -ésima parcela recebendo o  $i$ -ésimo nível de A;

$(ab)_{ij}$ : efeito conjunto do  $i$ -ésimo nível de A e  $j$ -ésimo nível de B;

$e_{ijk}$ : efeito do erro aleatório.

Para a produção de gases em função da digestibilidade da matéria seca (MSD), matéria orgânica (MOD), fibra detergente neutro (FDND) e a produção de gás metano ( $\text{CH}_4$ ) foi utilizado o delineamento com distribuição inteiramente aleatória em arranjo fatorial 4 X 2, no qual foram utilizados quatro doses de uréia (0,0; 1,0; 1,5; 2,0%) como fonte de nitrogênio não protéico (NNP), duas fontes de inóculo (cateto e ovino); e cinco repetições

Modelo matemático:

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (ab)_{ij} + e_{ijk} \quad \left\{ \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, I \\ j = 1, 2, \dots, J \\ k = 1, 2, \dots, k \end{array} \right. \quad (2)$$

onde,  $y_{ijk}$ : valor da parcela que recebeu o  $i$ -ésimo tratamento na  $j$ -ésima repetição;

$\mu$ : média geral;

$a_i$ : efeito do  $i$ -ésimo tratamento;

$b_j$ : efeito do nível  $j$  de B;

$(ab)_{ij}$ : efeito da interação dos fatores A e B;

$e_{ijk}$ : efeito devido aos fatores não controlados no  $i$ -ésimo tratamento na  $j$ -ésima repetição.

Os dados foram submetidos à análise de variância, correlação e regressão para todos os parâmetros, sendo estipulado nível de aceitação de 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ ) e coeficiente de correlação maior ou igual a 70% ( $r \geq |0,70|$ ). Para as correlações que apresentaram coeficiente maior ou igual a 70% foram feitas as análises de regressão. Todas as análises estatísticas foram feitas com o auxílio do software SAS (Statistical Analysis System 6.11, 1997).

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de pH obtido no conteúdo do pré-estômago dos cinco catetos sacrificados foram 4,69, 4,79, 4,80, 4,70 e 5,02. Estes valores foram mais ácidos do que o esperado, provavelmente devido ao fornecimento da dieta concentrada aos animais que propiciou o crescimento e atuação de bactérias amilolíticas que se desenvolvem bem em pH mais baixos.

O pH médio encontrado neste experimento ( $4,79 \pm 0,13$ ) foi próximo aos valores obtidos por Lochmiller et al. (1989) que avaliaram catetos alimentados com dieta concentrada (16,4% de PB), composta por milho, farelo de soja, suplemento mineral e vitamínico, que foram sacrificados quatro horas após o consumo, apresentando um pH de  $5,14 \pm 0,24$ , embora os autores afirmem ter ocorrido uma mistura dos conteúdos do pré-estômago e estômago glandular.

Antes dos inóculos de cateto (A e B) terem sido incubados, foi adicionada solução nutritiva na proporção de 1:1 (mL), devido a consistência mais sólida do conteúdo presente no pré-estômago. Assim, os valores de pH para os inóculos A e B no momento da incubação foram de 5,55 e 5,86, respectivamente, e os de ovino (C e D) de 6,36 e 6,27.

Ao final de 24 h de incubação das amostras, os meios inoculados com material de cateto e de ovino apresentaram pH médio de  $6,45 \pm 0,04$  e  $6,51 \pm 0,09$ , respectivamente. Esses valores de pH foram compatíveis para um ambiente adequado à fermentação no rúmen de bovinos (CHURCH, 1988; SILVA; LEÃO, 1979).

Em trabalhos anteriores, populações de protozoários foram encontradas no pré-estômago de catetos (CARL; BROWN, 1983). Provavelmente isso não aconteceu no presente experimento devido ao baixo pH ( $4,8 \pm 0,13$ ) existente no conteúdo do pré-estômago. Isto possivelmente foi decorrente da utilização de dieta concentrada. A população de protozoários pode diminuir muito com a ingestão de alimentos ricos em amido, havendo acúmulo de ácidos acético e propiônico e conseqüentemente queda do pH, assim, quando o pH no rúmen estiver igual ou abaixo de 5,5, poucos ou nenhum protozoários serão encontrados (SILVA; LEÃO, 1979).

#### **4.3.1 Produção acumulada de gases**

Tanto para o cateto como para o ovino foi fornecido dieta concentrada, porém o ovino, por ser um ruminante, necessita de fibra para manter em equilíbrio suas

funções digestivas, também foi alimentado com feno de capim-coast cross (*Cynodon dactylon*) *ad libitum*.

Observa-se na Figura 4.1 que a cinética fermentativa da produção acumulada de gases para cada inóculo apresentou comportamento diferenciado, sendo que para ambas as espécies o volume de gases produzido foi sempre crescente até 24 de incubação. Para o cateto, o volume de gases produzido foi superior a do ovino logo no início da incubação, mantendo-se assim até 18 h. A diferença na produção de gases entre as espécies começou a diminuir a partir de 11 h. Para o ovino, a produção de gases manteve-se em crescimento lento até as seis horas. A partir deste momento, houve aumento na produção de gases superando a do cateto após 18 h, permanecendo sempre superior até o final da incubação e com tendência sempre crescente.

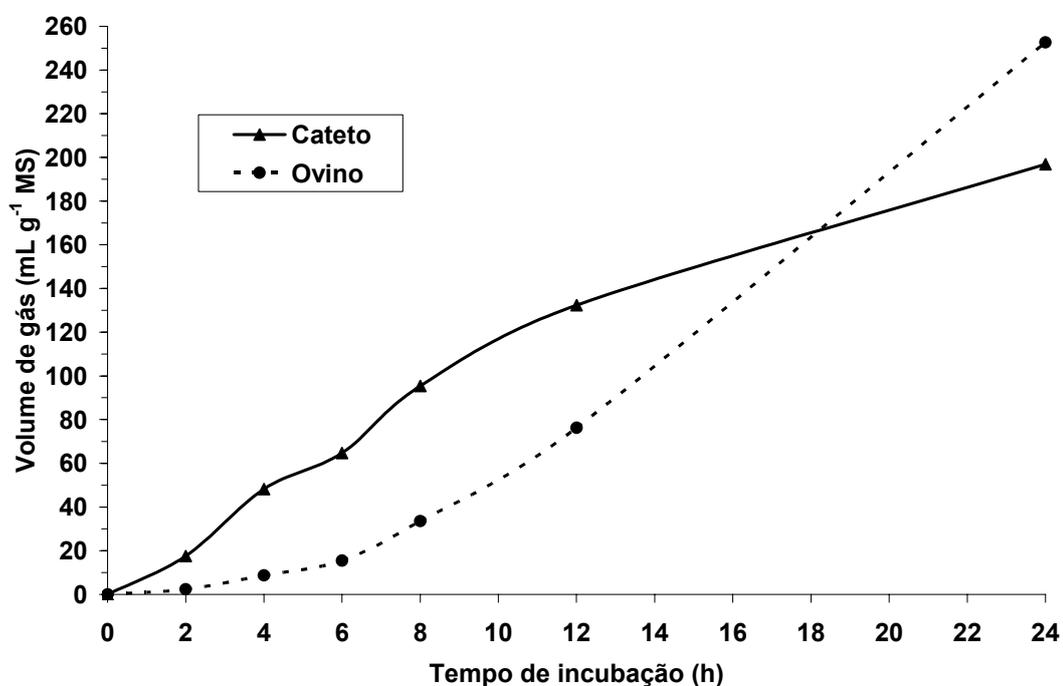


Figura 4.1. Produção acumulada de gases utilizando inóculo de cateto e ovino.

Provavelmente o inóculo de cateto apresentou uma população microbiana mais bem adaptada às condições de incubação, com pH baixo e ambiente rico em amido, beneficiando principalmente bactérias amilolíticas. Estas bactérias são capazes de atacar imediatamente as partículas dos cereais (carboidratos solúveis e amido), aumentando a taxa de fermentação nas primeiras horas (CHURCH, 1988) e, conseqüentemente, aumentando o volume de gases produzido a partir da degradação.

Isto não aconteceu com o inóculo do ovino, pois devido à presença de feno em sua dieta experimental e com pH mais neutro no momento da incubação, possivelmente apresentou uma população microbiana (celulolítica) menos adaptada ao ambiente. Microrganismos celulolíticos possuem um ótimo crescimento com pH  $6,7 \pm 0,5$  e, abaixo de 6,2 ocorre inibição do mesmo e atraso da taxa de digestão (VAN SOEST, 1994).

Com o tempo de incubação de aproximadamente 11 horas, a produção de gases para o cateto, embora crescente, foi diminuindo o seu volume em comparação a do ovino. Isto pode ter ocorrido devido a uma diminuição do substrato a ser degradado. Já para os ovinos a produção de gases foi aumentando rapidamente a partir das seis horas de incubação, o que podemos inferir que houve um crescimento da população microbiana adaptada ao meio de incubação. Durante a adaptação a uma dieta rica em concentrados, o pH exerce influência contra microrganismos intolerantes a pH baixo (ácido), assim, quando o mesmo diminui, aumentam as bactérias amilolíticas enquanto isso diminuem os microrganismos celulolíticos, aumentando a atividade da amilase em relação a celulase (CHURCH, 1988).

A fim de verificar se houve diferença entre as médias de produção de gases para as doses de uréia, apresenta-se na Tabela 4.2 a análise de variância nos diferentes tempos de incubação para inóculo de cateto e de ovino.

Para o cateto não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) na produção de gases para as diferentes doses de uréia no tempo de incubação de 2h. Entretanto, para os demais tempos de incubação apresentaram diferença significativa ( $P<0,01$ ), ou seja, pelo menos dois tratamentos diferiram entre si. Para o ovino houve apenas diferença significativa ( $P<0,01$ ) da produção de gases para as doses de uréia no tempo de incubação de 2 h.

Tabela 4.2 - Análise de variância da produção acumulada de gases ( $\text{mL g}^{-1}$  MS) para as doses de uréia nos diferentes tempos de incubação em cada espécie.

Tempos de incubação	Cateto					
	Doses de uréia (%)				P>F	CV (%)
	0,0 %	1,0 %	1,5 %	2,0 %		
2 h	18,60	15,36	18,07	18,26	0,114	18,44
4 h	50,74	42,39	49,13	50,51	0,008	12,11
6 h	68,30	57,86	65,45	67,47	0,002	9,67
8 h	100,46	87,17	95,57	98,31	0,001	7,52
12 h	136,91	123,05	132,80	136,73	0,002	6,42
24 h	198,51	188,39	200,36	200,15	0,009	4,32
	Ovino					
2 h	3,47	2,02	1,81	2,46	0,008	39,39
4 h	9,17	9,59	8,11	7,97	0,470	41,09
6 h	16,79	16,66	15,41	13,30	0,331	31,60
8 h	35,04	36,56	34,19	28,72	0,133	22,68
12 h	77,45	82,71	81,28	75,38	0,409	22,54
24 h	272,94	275,15	270,98	247,18	0,032	20,40

CV = Coeficiente de variação (%)

Na Tabela 4.3 encontra-se o coeficiente de correlação para verificar o quanto as variáveis produção de gases e doses de uréia estão correlacionadas nos diferentes tempos de incubação. Deste modo, as diferenças entre as doses de uréia foram testadas simultaneamente para as variáveis que estão correlacionadas. Nesse sentido, estipulou-se nível de aceitação de  $P < 0,05$  e coeficiente de correlação de  $r \geq |0,70|$ .

Tabela 4.3 – Coeficiente de correlação entre a produção acumulada de gases ( $\text{mL g}^{-1}$  MS) e as doses de uréia nos diferentes tempos de incubação.

Tempos de Incubação	Doses de uréia (%)	
	P>F	r
Cateto		
2 h	0,953	-0,01
4 h	0,942	0,01
6 h	0,888	-0,02
8 h	0,616	-0,08
12 h	0,995	<0,01
24 h	0,455	0,12
Ovino		
2 h	0,025	-0,39
4 h	0,323	-0,18
6 h	0,104	-0,28
8 h	0,125	-0,26
12 h	0,504	-0,12
24 h	0,041	-0,35

Para o inóculo de cateto não houve correlação ( $P > 0,05$ ) entre a produção de gases e as diferentes doses de uréia nos tempos de incubação. Houve baixa

correlação entre a produção de gases e as doses de uréia nos tempos de incubação de 2 h ( $r = -0,39$ ;  $P < 0,025$ ) e 24 h ( $r = -0,35$ ;  $P < 0,041$ ) para inóculo de ovino.

Os valores médios da produção de gases comparados entre as duas espécies animais foram significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ) pelo teste de *Tukey* para os diferentes tempos de incubação (Tabela 4.4). Ao final da incubação (24 h) o volume de gases produzido no inóculo de ovino ( $263,95 \text{ mL g}^{-1} \text{ MS}$ ) foi 25,4% superior a do cateto ( $196,85 \text{ mL g}^{-1} \text{ MS}$ ).

Tabela 4.4 - Comparação das médias de produção acumulada de gases entre cateto e ovino nos diferentes tempos de incubação.

Variável	Produção de Gases ( $\text{mL g}^{-1} \text{ MS}$ )		
	Cateto	Ovino	dms <sup>1</sup>
2 h	17,57 <sup>a</sup>	2,42 <sup>b</sup>	1,18
4h	48,19 <sup>a</sup>	8,70 <sup>b</sup>	2,36
6h	64,77 <sup>a</sup>	15,36 <sup>b</sup>	2,62
8 h	95,38 <sup>a</sup>	33,31 <sup>b</sup>	3,40
12 h	132,37 <sup>a</sup>	77,17 <sup>b</sup>	5,91
24 h	196,85 <sup>a</sup>	263,95 <sup>b</sup>	9,09

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de *Tukey* ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Diferença mínima significativa

A produção de gases para as duas espécies não foi influenciada pela presença da uréia alimentar durante a incubação, mostrando aparentemente não ter sido prejudicial à microbióta principalmente do cateto. O inóculo de cateto utilizado na fermentação *in vitro* através da técnica de produção de gases gerou um volume de gases similar ao inóculo de ovino (ruminante). A fermentação no rúmen é resultado de atividades físicas e microbiológicas que transformam os componentes da dieta em produtos como proteína microbiana, vitaminas do complexo B e gases (ácidos graxos voláteis,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  e outros) (CHURCH, 1988; VAN SOEST, 1994).

Simulando a fermentação através da técnica *in vitro* de produção de gases utilizando o inóculo de cateto, nota-se que durante 24 h de incubação houve produção de gases, confirmando a presença e ação microbiana no pré-estômago deste animal, produzindo gases (subprodutos) em consequência da degradação do substrato presente. Assim, o pré-estômago do cateto pode ser comparado à câmara de fermentação microbiana capaz de degradar alimentos e com potencial para utilização do NNP como recurso protéico.

#### **4.3.2 Produção de gases a partir da digestibilidade da MS, MO e FDN**

A produção de gases durante 24 h de incubação mostrou que houve digestibilidade dos componentes do substrato. Deste modo, foi estimado o volume de gases produzido para ambas as espécies na matéria orgânica (MO) e a partir da digestibilidade da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO) e fibra detergente ácido (DFDN).

Na Tabela 4.5 estão apresentados a análise de variância da DMS, DMO, DFDN e produção de gases (MO, MSD, MOD, FDND) para as diferentes doses de uréia no inóculo de cateto e de ovino.

Para o cateto, todas os parâmetros apresentaram diferença significativa ( $P < 0,01$ ) para as diferentes doses de uréia. Para o ovino, não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos para produção de gases em função da MSD e MOD, havendo efeito de significativo ( $P < 0,01$ ) para os demais parâmetros.

Tabela 4.5 - Análise de variância da DMS, DMO, DFDN e produção de gases em função da MO, MSD, MOD, FDND para as doses de uréia em cada espécie.

Parâmetros	Cateto					
	Doses de uréia (%)				P>F	CV (%)
	0,0 %	1,0 %	1,5 %	2,0 %		
mL g <sup>-1</sup> MS <sup>a</sup>	198	188	200	200	0,009	4,32
DMS, %	75	81	81	80	<0,001	3,85
DMO, %	75	83	83	81	0,001	5,61
DFDN, %	11	15	15	21	<0,001	21,15
mL g <sup>-1</sup> MO	208	197	210	210	0,009	4,32
mL g <sup>-1</sup> MSD	265	232	246	249	0,001	6,45
mL g <sup>-1</sup> MOD	280	238	254	259	0,001	8,15
mL g <sup>-1</sup> FDND	5745	3936	3897	3132	<0,001	22,27
	Ovino					
mL g <sup>-1</sup> MS <sup>a</sup>	273	275,15	270,98	247,18	0,032	20,40
DMS, %	82	82	82	79	0,003	2,78
DMO, %	85	85	85	81	0,003	3,04
DFDN, %	15	20	14	12	<0,001	14,65
mL g <sup>-1</sup> MO	256	288	232	204	0,032	10,40
mL g <sup>-1</sup> MSD	298	334	273	248	0,135	9,50
mL g <sup>-1</sup> MOD	301	339	276	252	0,157	9,49
mL g <sup>-1</sup> FDND	5054	4338	4868	5068	<0,001	13,90

<sup>a</sup> Produção acumulada de gases no tempo de 24 h de incubação  
CV = Coeficiente de variação (%)

Comparando as médias de DMS e DMO entre as espécies animais, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) pelo teste de *Tukey*, o que não ocorreu para DFDN ( $P > 0,05$ ). Para produção de gases houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para todos os parâmetros (MO, MSD, MOD, FDND) pelo teste de *Tukey* (Tabela 4.6).

Tabela 4.6 - Comparação das médias da DMS, DMO, DFDN e produção de gases em função da MO, MSD, MOD, FDND entre cateto e ovino.

Parâmetros	Digestibilidade e produção de gases		
	Cateto	Ovino	dms <sup>1</sup>
DMS, %	79 <sup>a</sup>	81 <sup>b</sup>	1,0
DMO, %	81 <sup>a</sup>	84 <sup>b</sup>	2,0
DFDN, %	15 <sup>a</sup>	15 <sup>a</sup>	1,0
mL g <sup>-1</sup> MO	206 <sup>a</sup>	276 <sup>b</sup>	9,52
mL g <sup>-1</sup> MSD	248 <sup>a</sup>	325 <sup>b</sup>	11,12
mL g <sup>-1</sup> MOD	257 <sup>a</sup>	329 <sup>b</sup>	12,12
mL g <sup>-1</sup> FDND	4177 <sup>a</sup>	5453 <sup>b</sup>	394,94

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de *Tukey* ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Diferença mínima significativa

O cateto apresentou valor total de 79% e 81% para DMS e DMO, respectivamente, por sua vez o ovino apresentou 81% e 84%, respectivamente. A DMS e a DMO para o cateto comparadas às do ovino foram muito próximas, levando em conta a utilização de uma dieta experimental concentrada como substrato. O valor total de DFDN (15%) foi o mesmo para ambas as espécies, sendo possível afirmar a real capacidade do cateto em degradar material fibroso, fato já confirmado por vários autores (CARL; BROWN, 1986; COMIZZOLI et al., 1997; NOGUEIRA-FILHO, 2005; STREY; BROWN, 1989), embora tenha sido utilizado substrato com baixa percentagem em fibra. Contudo, é evidente que o ovino, por ser ruminante, possui capacidade superior, comparada ao cateto, em digerir alimentos ricos em fibra.

Para o volume de gases produzido (mL g<sup>-1</sup>) em função da MO, MSD, MOD e FDND os valores totais para o ovino (276, 325, 329, 5453) foram sempre superiores aos do cateto (206, 248, 258, 4177), conseqüentemente, apresentou também maior digestibilidade do substrato. Para ambas as espécies, a produção de gases pode

representar ganho para a população microbiana e para o hospedeiro com a produção de ácidos graxos voláteis (AGV) ou perda com a produção de CO<sub>2</sub> e metano. A fermentação microbiana no rúmen gera gases que são úteis como o AGV e inúteis como metano e CO<sub>2</sub> (CHURCH, 1988), embora estes últimos de extrema necessidade, a fim de manter a neutralidade do ambiente, ideal para a sobrevivência microbiana, diminuindo a concentração de hidrogênio (H<sub>2</sub>).

O metano é formado a partir do CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>, havendo consumo de energia (ATP) para que ocorra esta síntese, sendo que cerca de 6 a 8% de energia bruta dos alimentos é perdida sob a forma de metano (SILVA; LEÃO, 1979).

Deste modo, possivelmente para o ovino houve maior perda de energia em comparação ao cateto, em consequência do elevado potencial hidrogeniônico durante a incubação. Entretanto, a produção de AGV no ovino também pode ter sido maior em comparação ao cateto, fornecendo energia e diminuindo as possíveis perdas. As concentrações de AGV no rúmen são superiores com dietas concentradas, pois a velocidade e a quantidade da produção destes ácidos são maiores em dietas de elevada densidade e disponibilidade energética (CHURCH, 1988).

Na Tabela 4.7, apresentam-se os coeficientes de correlação ( $r \geq |0,70|$ ;  $P < 0,05$ ) entre os parâmetros de digestibilidade (DMS, DMO, DFDN) e produção de gases (MO, MSD; MOD; FDND) e os diferentes tratamentos (doses de uréia).

De acordo com o nível de aceitação ( $P \leq 0,05$ ) e o coeficiente de correlação ( $r \geq |0,70|$ ) estipulado, observa-se na Tabela 4.7, que para o cateto os parâmetros DFDN ( $r = 0,70$ ;  $P < 0,01$ ) e produção de gases em função de FDND ( $r = -0,71$ ;  $P < 0,01$ ) apresentaram correlação com as doses de uréia. A produção de gases não

apresentou correlação ( $P > 0,05$ ) em função da MO e para os demais parâmetros os coeficientes de correlação foram baixos ( $r < 0,70$ ).

Tabela 4.7 – Coeficiente de correlação entre as doses de uréia e a DMS, DMO, DFDN e produção de gases em função da MO, MSD, MOD, FDND para cada espécie.

Parâmetros	Doses de uréia (%)	
	P>F	r
	Cateto	
mL g <sup>-1</sup> MS <sup>a</sup>	0,455	0,12
DMS, %	<0,001	0,53
DMO, %	0,003	0,45
DFDN, %	<0,001	0,70
mL g <sup>-1</sup> MO	0,455	0,12
mL g <sup>-1</sup> MSD	0,061	-0,30
mL g <sup>-1</sup> MOD	0,055	-0,30
mL g <sup>-1</sup> FDND	<0,001	-0,71
	Ovino	
mL g <sup>-1</sup> MS <sup>a</sup>	0,041	-0,35
DMS, %	0,004	-0,48
DMO, %	0,003	-0,49
DFDN, %	0,060	-0,32
mL g <sup>-1</sup> MO	0,041	-0,35
mL g <sup>-1</sup> MSD	0,125	-0,26
mL g <sup>-1</sup> MOD	0,148	-0,25
mL g <sup>-1</sup> FDND	0,160	0,24

<sup>a</sup> Produção acumulada de gases no tempo de 24 h de incubação

Para o inóculo de ovino, a DMS, a DMO e a produção de gases em função da DFDN apresentaram baixa correlação ( $r < 0,70$ ) com as doses de uréia, já os outros parâmetros não apresentaram correlação ( $P > 0,05$ ).

Na Figura 4.2, observa-se um ajuste de regressão linear aditiva ( $y = 4,34 + 10,56x$ ) entre a DFDN e as diferentes doses de uréia para inóculo de cateto, o qual mostra que a digestibilidade de FDN foi beneficiada com aumento das doses de uréia.

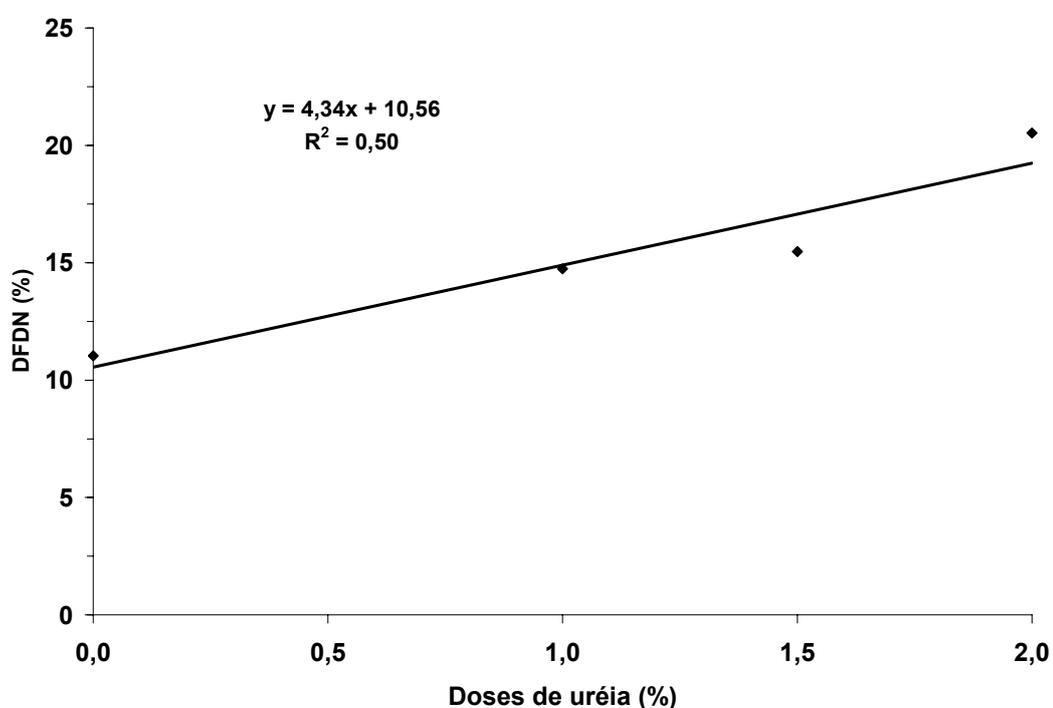


Figura 4.2. Regressão linear entre a digestibilidade da FDN (DFDN) pelo resíduo da digestão *in vitro* em função das doses de uréia para inóculo de cateto.

A adição de carboidratos rapidamente degradáveis promove a utilização de uréia. Deste modo, ocorre uma sincronização entre o carboidrato e o nitrogênio, melhorando a eficiência microbiana (VAN SOEST, 1994). Tanto os carboidratos rapidamente fermentáveis como os carboidratos complexos (estruturais), ambos

fonte de energia, ajudam na utilização da uréia pelos microrganismos, contudo, quantidades elevadas de carboidratos prontamente fermentáveis reduzem a digestão da celulose (SILVA; LEÃO, 1979).

Nota-se na Figura 4.3 que para a produção de gases em função da FDND com inóculo de cateto apresentou diminuição do volume de gases ( $\text{mL g}^{-1}$  FDND) com aumento das doses de uréia ao final de 24 h de incubação, apresentando uma regressão linear inversa entre os parâmetros ( $y = -1259x + 5594$ ).

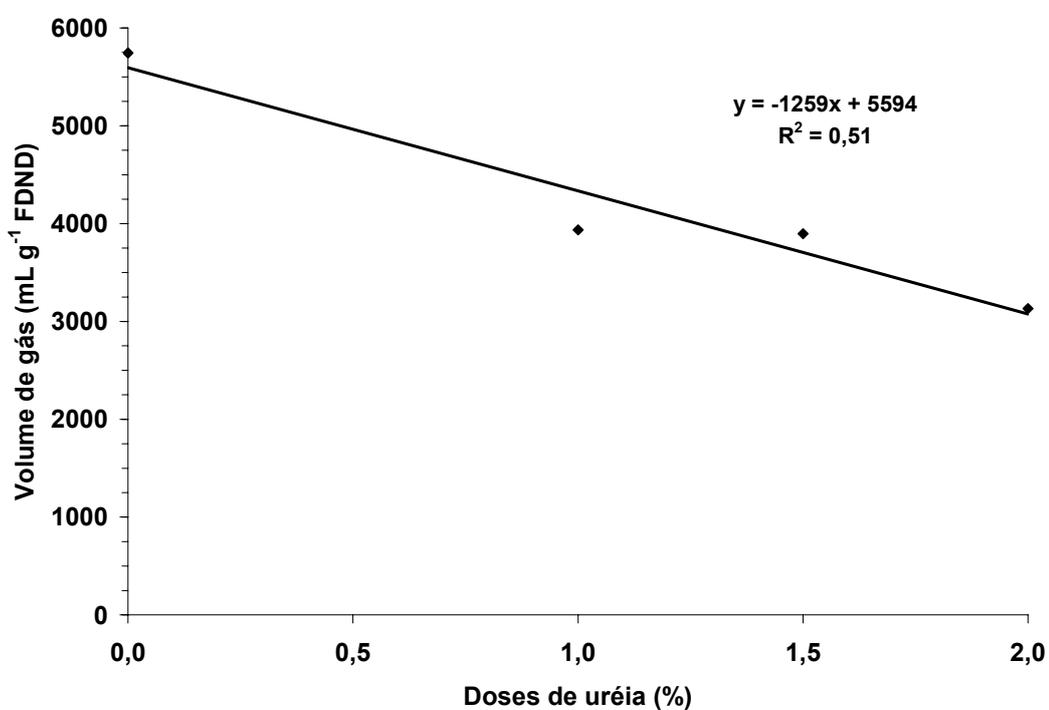


Figura 4.3. Regressão linear entre a produção de gases ( $\text{mL g}^{-1}$  FDND) e doses de uréia para inóculo de cateto.

Acredita-se que esta diminuição acentuada do volume de gases ( $\text{mL g}^{-1}$  FDND) em inóculo de cateto com o aumento das doses de uréia ocorreu devido à saturação do ambiente de incubação com os subprodutos gerados da fermentação, o que possivelmente ocasionou a morte dos microrganismos fermentadores por

acidificação do meio, principalmente algumas bactérias que digeriam celulose. Outra questão é que proteína não contribui para produção de gases e sim para formação de amônia que é convertida em compostos nitrogenados dos microrganismos.

#### **4.3.3 Produção de gás metano (CH<sub>4</sub>)**

Como já mencionado o metano é um dos produtos gasosos finais decorrentes da fermentação microbiana no rúmen. Os microrganismos metanogênicos têm importante papel na fermentação do rúmen ao diminuir a concentração de H<sub>2</sub>, sendo rapidamente utilizado pelos microrganismos na presença de CO<sub>2</sub> dando origem ao metano, permitindo uma fermentação mais eficaz (CHURCH, 1988).

Apresenta-se na Tabela 4.8 a análise de variância da produção de gás metano em função da MS, MO, MSD, MOD e FDND para as diferentes doses de uréia no inóculo de cateto e de ovino.

Para o cateto, a produção de gás metano em função da FDND não apresentou efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para as diferentes doses de uréia, porém para o ovino houve diferença significativa ( $P < 0,01$ ) para o mesmo parâmetro. Para os demais parâmetros de produção de gás metano houve diferença significativa ( $P < 0,01$ ) para catetos, não ocorrendo efeito não significativo ( $P > 0,05$ ) para os ovinos.

Tabela 4.8 - Análise de variância da produção de gás CH<sub>4</sub> (μL g<sup>-1</sup>) em função da MS, MO, MSD, MOD e FDND para as diferentes doses de uréia em cada espécie.

Parâmetros	Cateto					
	Doses de uréia (%)				P>F	CV (%)
	0,0 %	1,0 %	1,5 %	2,0 %		
Metano (μL g <sup>-1</sup> )						
MS	46	50	48	76	<0,001	22,58
MO	48	53	50	80	<0,001	22,58
MSD	62	62	59	94	<0,001	23,54
MOD	66	64	61	97	<0,001	23,57
FDND	1390	1071	937	1256	0,253	43,37
Ovino						
MS	363	419	457	513	0,1428	45,34
MO	380	439	479	537	0,1428	45,34
MSD	446	515	567	661	0,1068	47,71
MOD	451	522	573	672	0,1034	47,93
FDND	7802	6225	10310	14395	0,0032	57,58

<sup>2</sup> Produção de gás CH<sub>4</sub>

Foi estipulado nível de aceitação de  $P < 0,05$  e coeficiente de correlação de  $r \geq |0,70|$  para verificar o quanto os parâmetros da produção de gás metano (MS, MO, MSD, MOD, FDND) estão correlacionados com as doses de uréia. Os coeficientes de correlação encontram-se na Tabela 4.9.

Para o cateto não houve correlação ( $P > 0,05$ ) entre a produção de gás metano em função da FDND e as doses de uréia, sendo que para os demais parâmetros os coeficientes de correlação foram baixos ( $r < 0,70$ ). Para o ovino houve baixa correlação entre os parâmetros e os tratamentos.

Tabela 4.9 – Coeficiente de correlação entre a produção de gás metano ( $\mu\text{L g}^{-1}$ ) e as diferentes doses de uréia.

Parâmetros	Doses de uréia (%)	
	P>F	r
	Cateto	
MS	0,001	0,54
MO	0,001	0,54
MSD	0,008	0,43
MOD	0,015	0,40
FDND	0,135	-0,26
	Ovino	
MS	0,021	0,39
MO	0,021	0,39
MSD	0,017	0,41
MOD	0,016	0,41
FDND	0,005	0,47

Os valores médios de produção de metano ( $\mu\text{L g}^{-1}$ ) comparados entre o cateto e o ovino apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) pelo teste de *Tukey* para todos os parâmetros (Tabela 4.10), sendo estes valores sempre superiores para o ovino.

A quantidade de gás metano proveniente da fermentação ruminal pode variar de acordo com a dieta utilizada, sabendo-se que quanto maior o teor de fibra de um ingrediente, maior será a percentagem de metano liberado. A produção de gás metano no rúmen é de 30 a 40% do volume total de gás produzido (CHURCH, 1988), e neste experimento *in vitro* com o uso de substrato concentrado, a produção de gás metano apresentou valores baixos (Tabela 4.10) em comparação à produção

total de gases tanto para o cateto (197 mL g<sup>-1</sup>MS) quanto para o ovino (264 mL g<sup>-1</sup>MS) em 24 h de incubação.

Tabela 4.10 - Comparação da produção de CH<sub>4</sub> para as diferentes doses de uréia entre cateto e ovino.

Variável	Produção de gás CH <sub>4</sub>		
	Cateto	Ovino	dms <sup>1</sup>
MS, µL g <sup>-1</sup>	54 <sup>a</sup>	450 <sup>b</sup>	68
MO, µL g <sup>-1</sup>	57 <sup>a</sup>	471 <sup>b</sup>	71
MSD, µL g <sup>-1</sup>	69 <sup>a</sup>	563 <sup>b</sup>	89
MOD, µL g <sup>-1</sup>	71 <sup>a</sup>	571 <sup>b</sup>	91
FDND, µL g <sup>-1</sup>	1153 <sup>a</sup>	9973 <sup>b</sup>	1917

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de *Tukey* (p<0,05)

<sup>1</sup> Diferença mínima significativa

A dieta concentrada na presença de microrganismos específicos promove elevada disponibilidade de energia e rápida fermentação produzindo uma maior concentração de H<sub>2</sub>, podendo aumentar o número de bactérias metanogênicas a fim de utilizar este excedente, porém estas são muito sensíveis a pH baixo. Neste pH baixo, há a redução do piruvato a lactato e propionato, assim, a produção elevada de ácido lático e propiônico tornam o ambiente ainda mais ácido, inibindo a atividade metanogênica e conseqüentemente a diminuição de CH<sub>4</sub> (CHURCH, 1988).

Através da estimativa da fermentação microbiana pela técnica de produção de gases *in vitro* utilizando inóculo de cateto, foi possível verificar que no pré-estômago deste animal existe um ambiente adequado para o crescimento microbiano e uma população microbiana capaz de fermentar nutrientes e produzir gases. Embora as diferentes doses de uréia tenham tido pouca influência nos resultados deste experimento, acredita-se que o fornecimento de NNP como suplemento protéico na alimentação do cateto é possível e viável.

#### 4.4 CONCLUSÕES

A incubação do conteúdo do pré-estômago de cateto (inóculo) apresentou produção de gases, inclusive gás metano, confirmando a presença e ação microbiana na degradação do substrato e sua similaridade com ruminante, com potencial para utilização do NNP.

A digestibilidade dos nutrientes *in vitro* utilizando o conteúdo do pré-estômago do cateto foi similar a do conteúdo ruminal do ovino para estas condições (substrato concentrado e uréia), principalmente para fibra em detergente ácido (FDN) que foi beneficiada com as doses crescentes de uréia, mostrando a real capacidade da fermentação pré-gástrica na fisiologia digestiva do cateto.

## 5 ESTIMATIVA DA SÍNTESE DE NITROGÊNIO MICROBIANO *IN VITRO* UTILIZANDO O ISÓTOPO ESTÁVEL $^{15}\text{N}$ COMO MARCADOR EM DIGESTA DO PRÉ-ESTÔMAGO DE CATETO

### Resumo

O cateto possui em seu trato digestivo um pré-estômago onde ocorre fermentação microbiana, sendo possível estimar a síntese microbiana através de marcadores isotópicos. Objetivou-se neste trabalho estimar a síntese de nitrogênio microbiano *in vitro* utilizando o isótopo estável  $^{15}\text{N}$  como marcador em delineamento com distribuição inteiramente aleatória e arranjo fatorial 4 X 2, no qual foram utilizados quatro doses de uréia (0,0; 1,0; 1,5; 2,0%) como fonte de nitrogênio não protéico (NNP), duas fontes de inóculo (espécie animal: cateto e ovino) e cinco repetições. Através do  $^{15}\text{N}$  foi possível estimar que a síntese de nitrogênio microbiano para o inóculo de cateto não apresentou efeito significativo ( $P>0,05$ ) para os tratamentos. A produção de nitrogênio amoniacal foi significativa ( $P<0,01$ ) para as diferentes doses de uréia com ajuste de regressão linear aditiva ( $R^2 = 0,50$ ). Para o inóculo de ovino, a síntese de nitrogênio microbiano não foi significativo ( $P>0,05$ ) para os tratamentos e a produção de nitrogênio amoniacal apresentou efeito significativo ( $P<0,01$ ) para as doses crescentes de uréia com ajuste de regressão linear aditiva ( $R^2 = 0,51$ ). A comparação entre os inóculos das duas espécies animais foi significativamente diferentes ( $P<0,05$ ) para produção de nitrogênio amoniacal e síntese de nitrogênio microbiano. Os microrganismos presentes no inóculo de cateto foram capazes de hidrolisar a uréia em amônia e esta, por sua vez, convertida em compostos nitrogenados para síntese microbiana, mostrando a eficiência da fisiologia digestiva deste animal no aproveitamento do NNP.

**Palavras-chave:** Cateto; *Pecari tajacu*; Ureia; NNP; Isótopo estável;  $^{15}\text{N}$ ; Síntese microbiana.

## **IN VITRO MICROBIAL NITROGEN SYNTHESIS ESTIMATED BY STABLE ISOTOPE $^{15}\text{N}$ AS MARKER USING DIGESTA FROM COLLARED PECCARY PRÉ-STOMACH AS INOCULUM**

### **Abstract**

The collared peccary has a fore-stomach in its digestive tract where microbial fermentation occurs, which allows to estimate microbial synthesis using isotope markers. The objective of this study was to estimate the in vitro nitrogen microbial synthesis using stable isotope as marker  $^{15}\text{N}$  in an entirely randomized distribution design, resulting and 4 x 2 factorial experiment, in which four urea doses (0.0; 1.0; 1.5; 2.0%) as source of non protein nitrogen (NPN), two sources of inoculum (collared peccary and sheep) and five replications. By using  $^{15}\text{N}$ , it was possible to evaluate that microbial nitrogen synthesis for the peccary collared inoculum and there was no significant difference ( $P>0.05$ ) for the treatments. The synthesis of microbial nitrogen to the peccary fore-stomach, did not show significant effect ( $P<0.01$ ) to the treatments, on the other hand the production of ammoniacal nitrogen was significant ( $P<0.01$ ) at different urea doses with an adjustment of additive linear regression ( $R^2 = 0.50$ ). The synthesis of microbial nitrogen for the sheep inoculum there was no significant difference ( $P>0.05$ ) for the treatments, on the other hand the production of ammoniacal nitrogen was significant ( $P<0.01$ ) at increasing urea doses with an adjustment of additive linear regression ( $R^2 = 0.51$ ). The comparison between inoculum of the two animals species there were no significant difference ( $P>0.05$ ) to production of ammoniacal nitrogen and synthesis of microbial nitrogen. The microorganisms present in the inoculum could hydrolyse the urea in ammonia and this, in its turn, is converted into nitrogen compounds for microbial synthesis, showing the efficiency of this animal's digestive physiology in NPN use.

**Keywords:** Collared peccary; *Pecari tajacu*; Urea; NPN; Stable isotope;  $^{15}\text{N}$ ; Microbial synthesis.

## 5.1 INTRODUÇÃO

O trato digestivo dos catetos (*Pecari tajacu*) é composto por dois compartimentos, onde o primeiro é formado por um pré-estômago provido de duas cavidades menores chamadas de sacos cegos e um segundo compartimento onde ocorre digestão gástrica: estômago gástrico.

No pré-estômago, existem condições favoráveis para a sobrevivência de uma atividade microbiana semelhante àquela presente no rúmen dos ruminantes (BODMER, 1989; LANGER, 1979; LOCHMILLER et al., 1989; SOWLS, 1997). Carl e Brown (1983) encontraram populações de protozoários no pré-estômago de catetos, a maioria do gênero *Entodinia*, os quais *Entodinia caudatum*, sendo encontrado também em menor número protozoários do gênero *Dasytricha*, embora bactérias não tenham sido identificadas.

O uso do nitrogênio não protéico (NNP) como recurso suplementar para substituir parte da proteína verdadeira para espécies possuidoras de fermentação pré-gástrica, através da habilidade dos microrganismos na síntese de proteína de alta qualidade, pode ser uma excelente alternativa para diminuição dos custos com a alimentação dos catetos e conseqüentemente, minimizar os custos com a produção desta espécie em cativeiro.

A quantificação desta massa microbiana sintetizada no pré-estômago dos catetos pode ser de grande importância para o organismo do animal hospedeiro, sendo um potencial de produção de nitrogênio de elevado interesse nutricional para manutenção e produção.

A utilização de marcadores microbianos auxilia na estimativa da proteína microbiana e conseqüentemente a sua contribuição como fonte de aminoácidos de

alto valor biológico para o animal hospedeiro. Em nutrição animal a utilização de marcadores ou traçadores isotópicos tais como  $^{14}\text{C}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$  e  $^{15}\text{N}$ , têm sido fundamentais no estudo da digestão dos alimentos pelos microrganismos do rúmen (IAEA, 1987).

O isótopo estável  $^{15}\text{N}$  tem sido eficiente e utilizado (*in vivo* e *in vitro*) para estimar a síntese microbiana em ruminantes (BUENO, 2002; CABRAL FILHO, 2004; MARTIN, WILLIAMS, MICHALET-DOREAU, 1994; WANG et al., 2000; WANG; ALEXANDER; McALLISTER, 2004), havendo uma correlação entre a taxa do marcador incorporado e o crescimento das células microbianas (HARMEYER et al., 1976). As fontes do marcador  $^{15}\text{N}$  utilizadas neste processo fermentativo do crescimento microbiano podem ser o sulfato de amônio e ou a uréia, ambos enriquecidos com o isótopo estável  $^{15}\text{N}$ .

O presente trabalho teve por objetivo quantificar a síntese de proteína microbiana em catetos *in vitro*, utilizando como marcador o sulfato de amônio enriquecido com  $^{15}\text{N}$  e testando o fornecimento de níveis crescentes de uréia alimentar na dieta.

## **5.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.2.1 Local do estudo e animais experimentais**

O presente experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal – LANA, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA, da Universidade de São Paulo – USP, localizado no município de Piracicaba - SP, onde foram utilizadas baias experimentais, uma para cada espécie animal: cateto e ovino (*Ovis aries*); com

15 m<sup>2</sup>, piso de concreto, possuindo comedouro e bebedouro, inseridas dentro de um galpão de alvenaria coberto com telhas de fibrocimento. Nos laboratórios do LANA, foram determinadas as análises químico-bromatológicas da dieta fornecida aos animais e das amostras experimentais.

Por sua vez, a quantificação do enriquecimento isotópico do nitrogênio marcado (<sup>15</sup>N) nas amostras experimentais foram determinadas no Laboratório de Isótopos Estáveis – LIE-CENA/ USP, também localizado no município de Piracicaba - SP.

Para determinação da síntese de nitrogênio microbiano *in vitro* foram sacrificados cinco catetos adultos para coleta do conteúdo (inóculo) do pré-estômago. Todos os animais eram machos, nascidos e criados em cativeiro, com peso médio de 22,1 ±1,96 kg, autorizados ao abate, adquiridos do criadouro científico e comercial da Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, localizado no município de Ilhéus, Bahia, possuidor de registro junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Foram utilizados também dois ovinos machos adultos, castrados, da raça Santa Inês, providos de fistula ruminal, do qual foi retirado o conteúdo do rúmen (inóculo) para comparação e estimativa da síntese de nitrogênio microbiano *in vitro*.

### **5.2.2 Dieta experimental**

A fim de estimar a síntese de nitrogênio microbiano *in vitro*, mensurando os efeitos de doses crescentes de uréia (0,0; 1,0; 1,5 e 2,0 %) como fonte de nitrogênio não protéico, foi fornecido aos animais uma dieta concentrada com 15% de proteína

digestível (PD), à base de milho triturado (67,5%), farelo de trigo (9,5%), farelo de soja (21%), suplemento vitamínico e mineral<sup>4</sup> (1,0%) e sal comum (1,0%).

A quantidade diária da dieta oferecida para os catetos foi de 500 g animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, sendo o fornecimento da uréia alimentar na proporção de 2,0% da quantidade da dieta oferecida, ou seja, 10 g de uréia para cada animal, definido em função do máximo consumo de uréia por dia (50 g) para um ruminante de 100 kg de peso vivo.

Para os ovinos, foi oferecida a mesma dieta concentrada na quantidade de 300 g animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, além de feno de capim coast cross (*Cynodon dactylon*) *ad libitum*. O fornecimento da uréia alimentar também foi na proporção de 2,0% da quantidade da dieta oferecida. A água foi fornecida *ad libitum* para as duas espécies animais.

A dieta amostrada durante o período experimental foi submetida às análises químico-bromatológicas, sendo a matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB), determinadas conforme a Association of Official Analytical Chemists - A.O.A.C. (1995). A fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) foram analisadas conforme Van Soest, Roberson e Lewis (1991), cujos resultados da dieta experimental são apresentados na Tabela 5.1.

---

<sup>4</sup> Composição: Vitamina A, Vitamina D<sub>3</sub>, Vitamina E, Calcário Calcítico, Fósforo Bicálcico, Óxido de Magnésio, Enxofre Ventilado (Flor de Enxofre), Cloreto de Sódio (Sal comum), Sulfato Ferroso, Sulfato de Cobre, Sulfato de Manganês, Óxido de Zinco, Iodato de Cálcio, Selenito de Sódio, Sulfato de Cobalto, Antioxidante, Melão de Cana em Pó, Caulim.

Tabela 5.1 - Composição proximal na matéria seca da dieta experimental fornecida aos animais.

Nutrientes	Dieta Experimental
Matéria seca, %	90,5
Matéria orgânica, % MS	95,6
Proteína bruta, % MS	16,2
Fibra em detergente neutro, % MS	14,7
Fibra em detergente ácido, % MS	6,0
Matéria mineral, % MS	4,5
Energia bruta*, kcal kg <sup>-1</sup>	3859,5

\* Estimado de acordo com Rostagno (2005)

### 5.2.3 Condução do experimento

Durante o período de adaptação de 15 dias às novas condições ambientais, foi fornecido aos cinco catetos a dieta experimental (500 g animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) em uma única vez ao dia (03:00 h), aumentando gradativamente a quantidade de uréia até atingir o maior tratamento de 10 g dia<sup>-1</sup>. Este horário do fornecimento da dieta foi definido segundo comunicação pessoal de Gomes<sup>5</sup>, que, em ensaio experimental, sugere o abate dos catetos em torno de cinco a seis horas após o consumo da dieta, não ocorrendo a possibilidade do pré-estômago apresentar-se com pouco conteúdo.

Durante o mesmo período foi fornecido para aos ovinos a dieta experimental (300 g animal<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) e o feno (*ad libitum*) uma única vez ao dia, respeitando o horário de manejo dos animais (16:00 h). A uréia foi fornecida gradativamente até a quantidade máxima de 6 g dia<sup>-1</sup> (2% do consumo).

<sup>5</sup> Eduardo Gomes (Mestrando) - Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, Ilhéus-BA.

#### **5.2.4 Coleta do inóculo**

Após o período de adaptação, a coleta do conteúdo do pré-estômago (inóculo) de cada cateto foi obtida a partir do sacrifício dos mesmos. O animal após imobilização com ajuda de um “puçá”, foi sensibilizado utilizando descarga elétrica de 220 volts, procedendo-se a sangria. No trato digestivo, foram feitas amarrações entre os estômagos (pré-estômago e estômago químico), entre o esôfago e o pré-estômago (esfíncter esofágico inferior) e entre o estômago e o duodeno (esfíncter pilórico). O trato digestivo constituído pelos dois estômagos foram removidos, colocados em estufa ventilada a temperatura de 39°C. Após o último abate, todos os conteúdos dos pré-estômagos foram coletados e acondicionados individualmente em sacos plásticos identificados, vedados para garantir anaerobiose, pesados e levados imediatamente em caixa de isopor para o laboratório.

Para os ovinos, a fração líquida e sólida do conteúdo ruminal, foi coletada através da cânula no rúmen e acondicionadas, respectivamente, em garrafa térmica pré-aquecida a 39°C e saco plástico inserido em caixa de isopor e, rapidamente levado para o laboratório. Foi utilizada uma sonda para a coleta da fração líquida e uma pinça tenaz para a coleta da fração sólida. O pH de cada conteúdo foi medido após as coletas.

#### **5.2.5 Preparo do inóculo**

Para avaliação da síntese microbiana *in vitro* a metodologia da técnica de produção de gases, proposta inicialmente por Maurício et al. (1999) e modificada por Bueno et al. (2005), foi utilizada neste experimento. Com os cinco conteúdos dos

pré-estômagos dos catetos foram obtidos dois inóculos: A e B, compostos pela mistura de dois conteúdos e meio para cada inóculo. A partir do conteúdo ruminal de cada ovino foram obtidos os inóculos: C e D.

Cada inóculo (A e B) foi homogeneizado em liquidificador por 10 segundos para recuperação dos microrganismos que aderem à fração sólida do alimento, sendo filtrados em tecido de algodão e mantidos em recipientes de vidro em banho-maria a 39°C com dióxido de carbono insuflado sobre a solução continuamente, a fim de manter as condições anaeróbicas. Para os ovinos, a fração líquida coletada foi misturada com a fração sólida na mesma proporção (1:1) antes de serem homogeneizados no liquidificador e procedimento semelhante ao descrito para o conteúdo do pré-estômago dos catetos.

#### **5.2.6 Síntese de N microbiano em digestibilidade *in vitro***

Para a quantificação da síntese de proteína microbiana e seu aproveitamento por catetos foi utilizado o isótopo estável  $^{15}\text{N}$  como traçador, o qual foi preparado uma solução de sulfato de amônio marcado (0,01333 g de  $[(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$  mL<sup>-1</sup>), com enriquecimento isotópico de 25% (5,30% de  $^{15}\text{N}$ ).

Em garrafas de vidro de 160 mL previamente identificadas, foram colocados 1 g de substrato (dieta), 90 mL de solução nutritiva, 10 mL de inóculo (BUENO et al., 2005), e 1 mL da solução de  $[(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$  enriquecido, além das percentagens de uréia de cada tratamento (0,000; 0,010; 0,015; 0,020 g) em relação a quantidade de substrato. As garrafas foram vedadas com rolhas de borracha, homogeneizadas e incubadas em estufa ventilada a 39°C por período de 24 horas.

Para cada inóculo (A, B, C e D) foram preparadas oito garrafas, sendo duas garrafas para cada tratamento (0,0; 1,0; 1,5 e 2,0 % de uréia), totalizando 32 garrafas. Além das garrafas sem a presença do substrato (branco).

A atividade microbiana foi interrompida colocando as garrafas em bandeja contendo gelo. Foi retirada uma alíquota da solução de cada garrafa para determinação de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), o qual foi analisado pelo método micro-Kjeldahlj (A.O.A.C. 1995).

A partir disto, o conteúdo de quatro garrafas foi centrifugado (1000 x g, 10 min), tendo como objetivo a separação dos microrganismos ligados à fração sólida. A partir desta centrifugação foi recolhido o sobrenadante e, realizadas três lavagens com solução tampão intercaladas com centrifugações (20000 x g, 30 min), descartando sempre o sobrenadante. O precipitado foi liofilizado e levado para quantificação do enriquecimento de <sup>15</sup>N (at %) na massa microbiana (<sup>15</sup>N – NM) por espectrometria de massa.

O conteúdo das garrafas remanescentes (quatro) foi centrifugado (20000 x g, 30 min), sendo descartado o sobrenadante. Com o precipitado, foram realizadas três lavagens com solução tampão intercaladas com centrifugações (20000 x g, 30 min), descartando sempre o sobrenadante. O precipitado foi liofilizado e levado para quantificação do enriquecimento de <sup>15</sup>N (at %) no resíduo (<sup>15</sup>N – NR) por espectrometria de massa. O nitrogênio total neste resíduo foi determinado pelo método micro-Kjeldahlj (A.O.A.C. 1995).

A síntese do nitrogênio de origem microbiana (NM), utilizando o traçador isotópico, foi estimada usando a equação proposta por Wang et al. (2000):

$$NM = \frac{APE_{inNR}}{APE_{inNM}} \times NR \quad (1)$$

onde APE é a % de átomos em excesso (enriquecimento) de  $^{15}\text{N}$  no NR (resíduo) e no NM (massa microbiana); NR é o nitrogênio total no resíduo (mg).

### 5.2.7 Delineamento experimental e análise estatística

Para este experimento *in vitro* foi utilizado o delineamento com distribuição inteiramente aleatório em arranjo fatorial 4 X 2, no qual foram utilizados quatro doses de uréia (0,0; 1,0; 1,5; 2,0%) como fonte de nitrogênio não protéico (NNP), duas fontes de inóculo (espécie animal: cateto e ovino) e cinco repetições (garrafas) para cada tratamento conforme modelo matemático:

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (ab)_{ij} + e_{ijk} \quad \left\{ \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, I \\ j = 1, 2, \dots, J \\ k = 1, 2, \dots, K \end{array} \right. \quad (1)$$

onde,  $y_{ijk}$ : valor da parcela que recebeu o i-ésimo tratamento na j-ésima repetição;

$\mu$ : média geral;

$a_i$ : efeito do i-ésimo tratamento;

$b_j$ : efeito do nível  $j$  de B;

$(ab)_{ij}$ : efeito da interação dos fatores A e B;

$e_{ijk}$ : efeito devido aos fatores não controlados no i-ésimo tratamento na j-ésima repetição.

Os dados foram submetidos à análise de variância, correlação e regressão para todos os parâmetros, sendo estipulado nível de aceitação de 5% de

probabilidade ( $P < 0,05$ ) e coeficiente de correlação maior ou igual a 70% ( $r \geq |0,70|$ ). Para as correlações que apresentaram coeficiente maior ou igual a 70% foram feitas as análises de regressão. Todas as análises estatísticas foram feitas com o auxílio do software SAS (Statistical Analysis System 6.11, 1997).

### **5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Muitas bactérias do rúmen utilizam a amônia ( $\text{NH}_3$ ) como recurso de nitrogênio (N) para o seu crescimento e conseqüentemente síntese de proteína microbiana. A amônia é derivada da degradação da proteína dietética, do nitrogênio não protéico (NNP) resultante da autólise de microrganismos e da uréia que entra no rúmen via saliva ou corrente sanguínea (SILVA; LEÃO, 1979), e também através da suplementação de uréia alimentar como fonte de NNP.

Após 24 de incubação através da técnica de produção de gases foi possível quantificar o nitrogênio amoniacal e estimar a síntese de nitrogênio microbiano utilizando sulfato de amônio enriquecido ( $^{15}\text{N}$ ) em inóculos de cateto e ovino.

#### **5.3.1 Produção de N amoniacal (N- $\text{NH}_3$ ) e síntese de N microbiano (NM)**

Na Tabela 5.2, encontra-se a análise de variância para verificar o efeito de significância para a produção de N amoniacal e síntese de N microbiano em relação às doses de uréia para inóculo de cateto e de ovino.

Para os inóculos de cateto e de ovino, a produção de N amoniacal apresentou efeito de significância ( $P < 0,01$ ) para as diferentes doses de uréia. A síntese de N microbiano, não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para ambas as espécies.

Tabela 5.2 - Análise de variância da produção de N amoniacal ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e N microbiano ( $\text{mg g}^{-1}$  MS) para as diferentes doses de uréia em cada espécie.

Parâmetros	Cateto					
	Doses de uréia (%)				P>F	CV (%)
	0,0 %	1,0 %	1,5 %	2,0 %		
N-NH <sub>3</sub>	109	150	127	207	<0,001	15,15
NM	11,03	11,04	9,76	12,00	0,321	14,72
	Ovino					
N-NH <sub>3</sub>	128	146	246	227	0,002	20,60
NM	5,60	5,80	6,11	7,09	0,398	20,75

CV = Coeficiente de variação (%)

Na Tabela 5.3, observa-se o coeficiente de correlação entre os parâmetros (N-NH<sub>3</sub> e NM) e as doses de uréia considerando nível de aceitação de  $P \leq 0,05$  e coeficiente de correlação de  $r \geq |0,70|$ . Tanto para o cateto quanto para o ovino, houve correlação entre a produção de N amoniacal e doses de uréia, apresentando coeficiente de correlação de 0,71 e 0,72, respectivamente. Para ambas as espécies não houve correlação entre a síntese de N microbiano e as doses de uréia.

Tabela 5.3 – Coeficiente de correlação (r) entre a produção de N-NH<sub>3</sub> (mg L<sup>-1</sup>) e síntese de NM (mg g<sup>-1</sup> MS) e as doses de uréia.

Parâmetros	Doses de uréia (%)	
	P>F	r
	Cateto	
N-NH <sub>3</sub>	0,002	0,71
NM	0,773	0,08
	Ovino	
N-NH <sub>3</sub>	0,002	0,72
NM	0,127	0,40

Os valores de produção de N amoniacal com inóculo de cateto aumentaram com as doses crescentes de uréia o qual podemos inferir que o pré-estômago do cateto possui condições para o desenvolvimento e crescimento de bactérias capazes de hidrolisar a uréia em CO<sub>2</sub> e amônia pela ação da urease, sendo similar à atividade ureolítica do rúmen.

Por sua vez, a amônia no rúmen é convertida em compostos nitrogenados para o crescimento dos microrganismos e conseqüentemente síntese de proteína microbiana de alta qualidade (VAN SOEST, 1994, SILVA; LEÃO, 1979). Deste modo, utilizando o traçador isotópico <sup>15</sup>N do sulfato de amônio enriquecido foi possível estimar a síntese de nitrogênio microbiano do inóculo de cateto após 24 h de incubação, o qual mostra que os microrganismos existentes no pré-estômago do cateto também converteram a amônia, proveniente da hidrólise do NNP, em nitrogênio microbiano.

Na Figura 5.1, observa-se ajuste de regressão linear aditiva onde a produção de nitrogênio amoniacal no inóculo de ambas as espécies foi beneficiada com o aumento das diferentes doses de uréia.

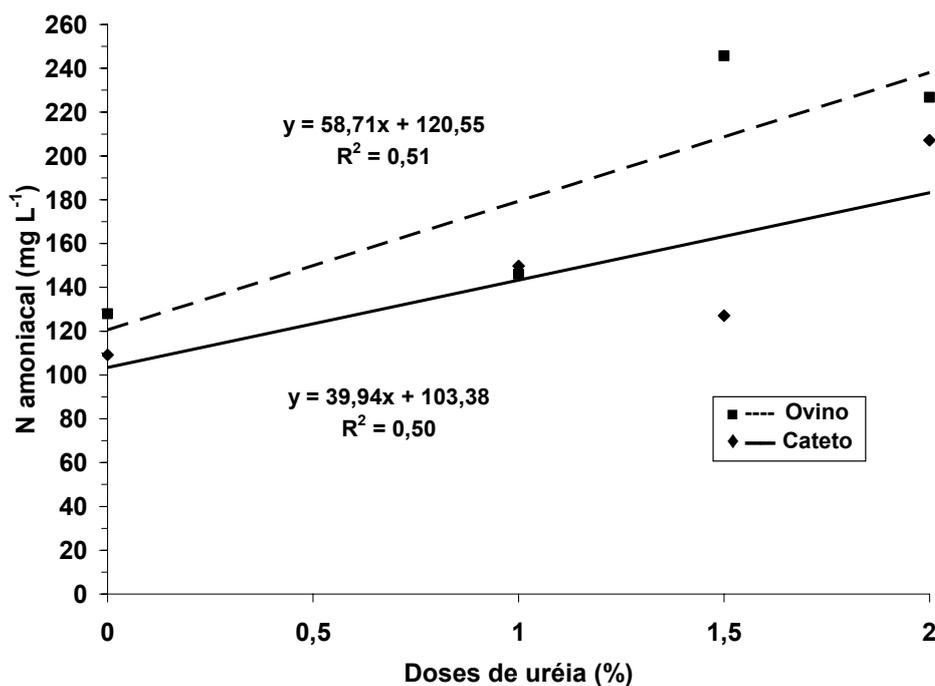


Figura 5.1. Regressão linear entre a produção de nitrogênio amoniacal e doses de uréia para inóculo de ovino e cateto.

Os valores médios da produção de N amoniacal e síntese de N microbiano apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para ambas as espécies pelo teste de *Tukey* (Tabela 5.4). A produção total de N amoniacal para o cateto (148 mg L<sup>-1</sup>) foi inferior a do ovino (187 mg L<sup>-1</sup>), contudo, o valor total de síntese microbiana para o cateto (10,95 mg g<sup>-1</sup> MS) foi superior a do ovino (6,15 mg g<sup>-1</sup> MS). Deste modo, observa-se que a população microbiana presente no inóculo do cateto foi mais eficiente na utilização do N amoniacal (7,39%) do que no inóculo do ovino (3,29%), e conseqüentemente apresentou maior síntese de N microbiano.

Tabela 5.4 - Comparação da produção de N-NH<sub>3</sub> e síntese de NM para as diferentes doses de uréia entre cateto e ovino.

Variável	Produção de N-NH <sub>3</sub> e síntese NM		
	Cateto	Ovino	dms <sup>1</sup>
N-NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	148 <sup>a</sup>	187 <sup>b</sup>	23
NM (mg g <sup>-1</sup> MS)	10,95 <sup>a</sup>	6,15 <sup>b</sup>	1,06

<sup>a, b</sup> Médias seguidas de letras distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de *Tukey* (p<0,05)

<sup>1</sup> Diferença mínima significativa

Um fator que pode prejudicar a utilização de nitrogênio e conseqüentemente a síntese de proteína microbiana é a baixa quantidade de carboidratos, que são compostos necessários para o fornecimento de energia e do esqueleto de carbono necessário à síntese de proteína microbiana (CHURCH, 1988). Segundo Silva e Leão (1979) a eficiência de utilização do nitrogênio varia com a natureza do carboidrato, e a presença do amido em relação a outros compostos é o que mais beneficia essa utilização.

Estes fatores citados pelos autores acima possivelmente não se aplicam à limitação da síntese de N microbiano no inóculo do ovino, pois durante a incubação o substrato utilizado foi dieta concentrada. A eficiência de utilização do N é maior quando o carboidrato é fermentado numa taxa equivalente à degradação da proteína ou que permita a utilização satisfatória do esqueleto de carbono e da energia produzida por essa fermentação (SILVA; LEÃO, 1979), fornecendo-se assim energia simultaneamente à síntese de proteína microbiana.

Em ambas espécies foi possível quantificar a síntese microbiana através do traçador isotópico <sup>15</sup>N. Para o cateto isto mostra o potencial microbiano presente em seu pré-estômago usando o NNP com fonte de N para a síntese de proteína

microbiana, ou seja, proteína de alto valor biológico. Esta similaridade dos resultados obtidos com o ovino sugere estudos futuros na utilização de uréia alimentar com maiores teores de fibra.

#### **5.4 CONCLUSÕES**

Os microrganismos presentes no conteúdo do pré-estômago dos catetos foram capazes de hidrolisar o NNP em amônia e reduzi-la a compostos nitrogenados para a síntese microbiana.

Com a utilização do isótopo estável  $^{15}\text{N}$  foi possível avaliar a eficiência da fisiologia digestiva do cateto no aproveitamento do NNP para síntese microbiana, o que possivelmente permitirá diminuir os custos de produção desta espécie em cativeiro.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em pesquisas com espécies silvestres *in vivo* é necessário a utilização de animais adaptados as condições experimentais, amenizando assim o estresse dos mesmos e, conseqüentemente gerando resultados fidedignos. A utilização de catetos amansados através de aleitamento artificial, que quando mal manejado pode colocar em risco a vida do filhote, e ou condicionados a utilizarem as gaiolas de metabolismo desde o desmame, podem ser algumas das maneiras de obtermos animais em condições mais favoráveis aos estudos de nutrição.

Outra questão é que os catetos, embora nascidos e criados em cativeiro, quando isolados dos outros animais ficam muito estressados porque são animais que vivem em grupos estáveis, assim, faz-se necessário utilizar períodos de adaptação mais longos as condições experimentais ou utilizar animais criados isolados desde o desmame.

## REFERÊNCIAS

- ANDRIGUETTO, J. M. et al. **Nutrição animal**: as bases e os fundamentos da nutrição animal. 3. ed. São Paulo: Nobel, 1988. v. 2, 425 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the AOAC**. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995. v. 1, p. 4/1-4/30.
- BARBARÁN, F. R. Comercialización de cueros de pecari (*Tayassu* sp.) en el Chaco semiárido de la Provincia de Salta, Argentina, período 1973-1997. In: FANG, T. G.; MONTENEGRO, O. L.; BODMER, R. E. (Ed.). **Manejo y conservación de fauna silvestre en América Latina**. La Paz: Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés, 1999. p. 195-206.
- BARRETO, G. R.; HERNANDEZ, O. E.; OJASTI, J. Diet of peccaries (*Tayassu tajacu* and T-peccari) in a dray forest of Venezuela. **Journal of Zoology**, Oxford, v. 241, p. 279-284, 1997.
- BERNARDI, L. G. **Efeito dos níveis crescentes de volumoso sobre a digestibilidade de nutrientes de rações para capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris hydrocheris*, L. 1766)**. 1993. 203 f. Dissertação – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.
- BODMER, R. E. Frugivory in Amazonian Artiodactyla: evidence for the evolution of the ruminant stomach. **Journal of Zoology**, Oxford, v. 219, p. 457-467, 1989.
- BODMER, R. E. Ungulate frugivores and the browser-grazer continuum. **Oikos**, Viçosa, v. 57, p. 319-325, 1990.
- BODMER, R. E. Uso sustentable de los ungulados amazônicos: implicaciones para las áreas protegidas comunales. In: In: FANG, T. G.; MONTENEGRO, O. L.; BODMER, R. E. (Ed.). **Manejo y conservación de fauna silvestre en América Latina**. La Paz: Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés, 1999. p. 51-58.
- BODMER, R. E.; PEZO, E. Análisis econômico de la venta de carne de monte y exportación de peles en Loreto, Perú. In: FANG, T. G.; MONTENEGRO, O. L.; BODMER, R. E. (Ed.). **Manejo y conservación de fauna silvestre en América Latina**. La Paz: Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés, 1999. p. 171-182.
- BUENO, I. C. S. **Comparação entre técnicas “in vitro” e “in situ” de avaliação de braquiária para ruminantes**. 1998. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

BUENO, I.C.S. et al. Uso de líquido do rúmen e fezes de bovinos e ovinos como fonte de inóculo para a técnica *in vitro* de produção de gases. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Viçosa: SBZ, 1999.

BUENO, I.C.S. **Cinética digestiva e síntese microbiana em ovinos alimentados com fenos de três qualidades distintas**. 2002. 97 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BUENO, I.C.S. et al. Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, p. 95-105, 2005.

CABRAL-FILHO, S. L. S. **Efeito do teor de tanino do sorgo sobre a fermentação ruminal e parâmetros nutricionais de ovino**. 2004. 77 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CAMPOS, J. **Tabelas para cálculo de rações**. 3. ed. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1994. 64 p.

CARRILO, G. Valor nutritivo de cuatro variedades de carne de monte de mayor consumo en la ciudad de Iquitos. In: CONGRESO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DE FAUNA SILVESTRE EN AMAZONIA Y LATINOAMÉRICA, 4., 1999, Asunción, Paraguay. **Libro de resúmenes...** Asunción, Paraguay: Fundación Moisés Bertoni, 1999. p. 43.

CARL, G.; BROWN, R. D. Protein requirement of adult collared peccaries. **Journal of Wildlife Management**, Menasha, v. 49, n. 2, p. 351-355, 1985.

CARL, G.; BROWN, R. D. Comparative digestive efficiency and feed intake of the collared peccary. **The Southwestern Naturalist**, College Station, v. 31, n. 1, p. 79-85, 1986.

CARL, G.; BROWN, R. D. Protozoa in the forestomach of the collared peccary. **Journal of Mammalogy**, Baltimore, v. 64, n. 4, p. 709, 1983.

CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D.; FIRKINS, J. L. Comparison of nitrogen-15 and purines as microbial markers in continuous culture. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 74, p. 1375-1381, 1996.

CHURCH, D. C. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1988. 563 p.

COMIZZOLI, P. et al. Digestive utilization of concentrated and fibrous diets by two peccary species (*Tayassu pecari*, *Tayassu tajacu*) raised in French Guyana. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 64, p. 215-226, 1997.

DUKES, H. H.; SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.

EDDY, T. A. Food and feeding patterns of the collared peccary in southern Arizona. **Journal of Wildlife Management**, Menasha, v. 25, n. 3, p. 248-257. 1961.

FARIA, V. P.; PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C. Modalidades de utilização de uréia para bovinos. In: CURSO DE ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS, 1992, Piracicaba. Piracicaba: FEALQ, 1992. p. 257-274.

FARIA, V. P.; PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C. Uréia para ruminantes. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 2., 1984, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1984. p.331-351.

FRAGOSO, J. M. V. Perception of scale and resource partitioning by peccaries: behavioral causes and ecological implications. **Journal of Mammalogy**, Baltimore, v. 80, p. 993-1003, 1999.

FURTADO, C. E. et al. Uso da técnica de produção de gases para avaliar alimentos para equinos utilizando fezes equinas e líquido ruminal como fonte de inóculo 1. Cinética de fermentação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1., 2004, Campo Grande. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2004.

GALLAGHER, J. F.; VARNER, L. W.; GRANT, W. E. Nutrition of the collared peccary in South Texas. **Journal of Wildlife Management**, Menasha, v. 48, n.3, p. 749-761, 1984.

GONZÁLEZ-JIMÉNEZ, E. **El capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*)** – Estado actual de su producción. Roma: FAO, 1995. 112 p. (Serie Estudio FAO. Produccion y Sanidad Animal, 122).

HARMEYER, H. et al. Effect of dietary protein synthesis in vitro by the simultaneous use the three different isotopic markers. In: RESEARCH CO-ORDINATION MEETING ON TRACER TECHNIQUES IN STUDIES ON THE USE OF NON-PROTEIN NITROGEN IN RUMINANTS, 1976, Alexandria, Egypt. **Tracers studies on non-protein nitrogen for ruminants III**. Vienna: FAO/IAEA, 1976. p. 69-80.

IAEA. International Atomic Energy Agency. Tracer techniques in tropical animal production. Vienna: IAEA, 1974. p. 208.

IBGE. **Anuário estatístico do Brasil**. Ministério do Planejamento e Coordenação Geral. Fund. IBGE, Instituto Brasileiro de Estatística., 1970. p. 101-104.

KILTIE, R. A. Stomach contents of rain forest peccaries (*Tayassu tajacu* and *T. pecari*). **Biotropica**, Washington, v. 13, n. 3, p. 234-236, 1981.

LANGER, P. Adapttational significance of the forestomach of the collared peccary, *Dicotyles tajacu* (Mammalia: Artiodactyla). **Mammalia**, Paris, v. 43, p. 235-245, 1979.

LIVA, H. A. et al. Aspectos da alimentação do cateto (*Tayassy tajacu*) em cativoiro. In: CONGRESSO PAULISTA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1., 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 1989.

LOCHMILLER, R. L. et al. Volatile fatty acids in the gastrointestinal tract of the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Journal of Mammalogy**, Baltimore, v. 70, p. 189-191, 1989.

MARTIN, C.; WILLIAMS, A. G.; MICHALET-DOREAU, B. Isolation and characteristics of the protozoal and bacterial fractions from bovine ruminal contents. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, p. 2962-2968, 1994.

MAURÍCIO, M. R. et al. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 79, p. 321-330, 1999.

McCOY, M.; VAUGHAN, C.; VILLALOBOS, V. An interesting feeding habit for the collared peccary (*Tayassu tajacu* Bangs) in Costa Rica. **Brenesia**, San Jose, v. 21, p. 456-457, 1983.

MAYOR, P. et al. Reproductive performance of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern Amazon. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 102, n. 1-2, p. 88-97, 2007.

NOGUEIRA FILHO, S. L. G. **Manual de criação de catetos e queixadas**. Viçosa: Centro de Produções Técnicas (CPT), 1999. 70 p.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G. The effects of increasing levels of roughage on coefficients of nutrient digestibility in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 120, p. 151-157, 2005.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; LAVORENTI, A. O manejo do caititu (*Tayassu tajacu*) e do queixada (*T. pecari*) em cativo. In: PÁDUA, C. V.; BODMER, R. E.; CULLEN JUNIOR, L. (Org.). **Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil**. Brasília: CNPq; Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 1997. p. 106-115.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. C. Criação comercial de animais silvestres: produção e comercialização da carne e subprodutos na região sudeste do Brasil. **Revista Econômica do Nordeste**, Fortaleza, v. 31, n. 2, p. 188-195, 2000.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. C. Captive Breeding Program as an alternative for wildlife conservation in Brazil. In: SILVIUS, K.; BODMER, R.; FRAGOSO, J. (Ed.). **People in nature: Wildlife management and conservation in Latin America**. New York: Columbia University Press, 2004. cap. 11.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G. et al. Urea as source of non-protein nitrogen to collared peccary. **Suiform Soundings**, Canberra, v. 6, p. 25-29, 2006.

NOZELLA, E. F. et al. Caracterização de forrageiras do nordeste utilizando a técnica de produção de gases, composição química e quantificação de taninos. 1. Plantas do Estado da Bahia (1). In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006. 1 CD-ROM.

REDFORD K. H.; ROBINSON J. G. Subsistence and commercial uses of wildlife in Latin America. In: ROBINSON, J. G.; REDFORD, K. H. (Ed.). **Neotropical wildlife use and conservation**. Chicago: University Chicago Press, 1991. p. 6-23.

REECE, W. O. **Fisiologia de animais domésticos**. São Paulo: Editora Roca, 1996. 251 p.

ROBINSON, J. G.; BENNETT, E. L. Carrying capacity limits to sustainable hunting in tropical forests. In: ROBINSON, J. G.; BENNETT, E. L. (Ed.). **Hunting for sustainability in tropical forests**. New York: Columbia University Press, 2000. p. 13-30.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2005. 186 p.

SANTOS, D. O. **A criação de caititus (*Tayassu tajacu*) como alternativa de diversificação de produção e renda na região cacauieira da Bahia, Brasil**. 2003. Dissertação (Mestrado em Planejamento e Gestão Ambiental no Trópico Úmido) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2003.

STATISTIC ANALYSIS SYSTEM. **SAS user's guide**. Cary: SAS Institute, 1997.

SHIVELY, C. L. et al. Some aspects of the nutritional biology of the collared peccary. **Journal of Wildlife Management**, Menasha, v. 49, p. 729-732, 1985.

SILVA, J. F. C.; LEÃO, M. I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. 384 p.

SOWLS, L. K. **The peccaries**. 1. ed. Tucson: The University Arizona Press, 1984. 251 p.

SOWLS, L. K. **Javelinas and other peccaries: their biology, management and use**. 2. ed. Texas A&M University Press, 1997.

STREY, O. F.; BROWN, R. D. *In vivo* and *in vitro* digestibilities for collared peccaries. **Journal of Wildlife Management**, Menasha, v. 53, n. 3, p. 607-612, 1989.

THEODOROU, M. K. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 48, p. 185-197, 1994.

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

VAN SOEST, P. J.; ROBERSON, J. B.; LEWIS, B. A. Method for dietary, fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

WANG, Y. et al. *In vitro* effect of steroidal saponins from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbial protein synthesis and ruminal fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, p. 2114-2122, 2000.

WANG, Y.; ALEXANDER, T. W.; McALLISTER, T. A. In vitro effects of Monensin and Tween 80 on ruminal fermentation of barley grain: barley silage-based diets for beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 116, p. 197-209, 2004.