

FLUXO DE PROTEÍNA DO RÚMEN PARA O DUODENO DE NOVILHOS ALIMENTADOS COM DIETA VOLUMOSA E DIETA CONCENTRADA¹

R.C. WANDERLEY² e C. BRENT THEURER³

RESUMO - Quatro novilhos fistulados foram usados para comparar o efeito da dieta (volumosa vs. concentrada) no fluxo duodenal de N e aminoácidos (AA). Lignina e Cr₂O₃ foram comparados com a coleta total automática (ATC), para estimar o fluxo duodenal de N em períodos de três a seis dias de coleta. As estimativas do fluxo de N baseadas no Cr₂O₃ e lignina foram, em média, 10 a 15% maiores (P < 0,05) do que aquela baseada na ATC. O fluxo duodenal diário de N na dieta concentrada foi cerca de 30% maior do que o ingerido. Essa diferença entre a ingestão e o fluxo duodenal de N não ocorreu de modo significativo na dieta volumosa. O fluxo duodenal de AA, em valores expressos como percentagem da quantidade ingerida, foi maior na dieta concentrada do que na dieta volumosa (P < 0,01), especialmente DAP, sugerindo maior síntese bacteriana na dieta concentrada. Ocorreu um ganho líquido em AA devido à digestão ruminal na dieta concentrada. Entre os AA essenciais (AAE), o maior ganho ocorreu com LYS, THR e ILE, na dieta concentrada, e foram estes os únicos AAE que apresentaram ganho líquido na dieta volumosa. Os dados sugerem um maior fluxo duodenal de N e AAE com o aumento de carboidrato não-estrutural na dieta. Outros estudos são necessários para o estabelecimento da proporção ideal entre carboidrato não-estrutural versus proteína na dieta, visando a otimização do fluxo duodenal de aminoácidos.

Termos para indexação: gado de corte, nutrição de ruminantes, digestão protéica, aminoácidos, lignina, óxido crômico, coleta total vs. indicadores.

DUODENAL PROTEIN FLOW IN STEERS FED CONCENTRATE AND ROUGHAGE DIETS

ABSTRACT - Four cannulated steers were used to compare the effect of diet (concentrate vs. roughage) on the duodenal N and aminoacidos (AA) flow. Lignin and Cr₂O₃ were compared with automated total collection (ATC) for estimating duodenal N flow over 3 to 6 - day collection periods. Estimations based on Cr₂O₃ and lignin were about 10 to 15% greater (P < 0.05) than direct flow measurements by ATC. Daily duodenal N flow was about 30% greater than daily N intake in the concentrate diet. Intake and duodenal flow of N were similar in the roughage diet. Duodenal AA flow values expressed as percentage of intake were greater in the concentrate diet than in roughage (P < 0.01), especially DAP, suggesting more bacterial synthesis in the concentrate diet. There was a net gain in AA due to a ruminal digestion in the concentrate diet. LYS, THR and ILE were the three EAA that increased the most in the concentrate diet and the only ones that increased in the roughage diet. The data suggest a beneficial effect on the duodenal N and EAA flow by increasing dietary non-structural carbohydrate. Further studies are necessary to establish the value of the structural and non-structural dietary carbohydrate ratio versus the source of dietary protein in optimizing AA ruminal out-flow reaching the duodenum.

Index terms: beef cattle, ruminant nutrition, protein digestion, aminoacids, lignin, chromic oxide, total collection vs. markers.

INTRODUÇÃO

O suprimento de proteína para o animal ruminante é determinado pela quantidade de proteína alimentar que escapa à digestão ruminal, pela sín-

tese microbiana no rúmen e ainda pela fração protéica endógena. As duas primeiras constituem a principal fonte de proteína para o animal.

Na última década, segundo Tamminga (1979), visando aumentar o suprimento de proteína no intestino, foi dada maior atenção aos meios para reduzir a degradação da proteína alimentar no rúmen em vez daqueles para aumentar a síntese de proteína microbiana.

Alguns fatores relacionados com a dieta têm grande influência na extensão desses dois fenômenos digestivos e alteram marcadamente a quantidade e tipos de aminoácidos disponíveis para absorção no intestino dos ruminantes (Theurer

¹ Aceito para publicação em 20 de maio de 1983.

Trabalho realizado em cooperação EMBRAPA/Universidade do Arizona, no Departamento de Ciência Animal daquela Universidade, Tucson (USA).

² Eng^o - Agr^o, Ph.D. Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (CNPIC) - EMBRAPA, Caixa Postal 10 CEP 62100 - Sobral, CE.

³ Animal Scientist, Professor Ph.D. Dept. of Anim. Sci., University of Arizona, Tucson, AZ. U.S.A.

1979). Suportam essa conclusão fatores estudados, tais como: nível de ingestão voluntária (Weller et al. 1971, Silva et al. 1972, Goshtasbpour-Parsi et al. 1977, Rahnema 1977, Tamminga et al. 1979), fonte de proteína na dieta (Theurer et al. 1968, Amos et al. 1970, Orskov et al. 1971, Tamminga 1973, Kropp et al. 1977, Ling & Buttery 1978, Zinn et al. 1981); concentração de nitrogênio na dieta (Hume et al. 1970, Orskov et al. 1971, Sutton et al. 1975, Amos et al. 1976); métodos de processamento de grãos e forragem (Porter et al. 1970, Galyean et al. 1975, Tamminga 1975, Cole et al. 1976, Rahnema 1977, Prigge et al. 1978), proporção forragem: concentrado na dieta (Neudoerffer et al. 1971, Cole et al. 1976, Tamminga 1979, Theurer 1979, Oldham & Tamminga 1980).

Kempton et al. (1977) sugeriram que a avaliação de alimentos como fontes de proteína para ruminantes deveria ser feita em termos de disponibilidade de nitrogênio na forma de amônia, de aminoácidos para os microrganismos do rúmen, da fração protéica que escapa à degradação ruminal e da digestibilidade dessa fração no intestino, além dos outros fatores mencionados.

Para estudar todos esses aspectos nutricionais da proteína, tem sido dada grande atenção à estimativa do fluxo dos componentes nitrogenados da digesta chegando ao duodeno, à extensão da degradação da proteína alimentar e síntese microbiana no rúmen. Entretanto, de acordo com Theurer (1979), cuidadosa atenção deve ser também dispensada aos indicadores para estimativa do fluxo da digesta no estudo daqueles fenômenos nutricionais.

Oldham & Tamminga (1980) destacaram que o suprimento duodenal de aminoácidos é agora visto como de crucial importância nos novos sistemas de arraçamento do gado, embora tenham reconhecido, com base no conhecimento atual, a dificuldade para tirar seguras conclusões sobre a relação entre aquele suprimento e os requerimentos do animal. Também foi destacada, por aqueles autores, a importância dos estudos visando quantificar o fluxo duodenal de aminoácidos, com ênfase nos fatores e métodos que influenciam esse fluxo e técnicas para medir o fluxo e avaliar os métodos.

Os objetivos do presente estudo foram: a) comparar a coleta total automática da digesta com os indicadores Cr_2O_3 e lignina para estimar o fluxo duodenal de nitrogênio; b) verificar o efeito das dietas (volumoso vs. concentrado) sobre o fluxo de nitrogênio e aminoácidos do rúmen para o duodeno, em novilhos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Quatro novilhos, com peso médio de 300 kg, preparados com cânulas do tipo reentrante duodenal, foram usados em dois períodos de coleta (três a seis dias cada), recebendo, individualmente, cerca de 4 kg, por dia, de forragem ou concentrado como dieta (Tabela 1), uma em cada período.

O óxido crômico e a lignina foram utilizados como indicadores da digesta e comparados com a coleta total automática (ATC) para estimar o fluxo de nitrogênio no duodeno. A comparação desses indicadores com a coleta total automática, para estimativa do fluxo da digesta, foi descrita com detalhes por Wanderley (1982). A concentração de N na digesta duodenal foi determinada pelo método Kjeldahl (A.O.A.C.). Aminoácidos, incluindo DAP (ácido diaminopimélico), foram determinados através de cromatografia automática de troca iônica, seguindo procedimento descrito por Rahnema (1977) e Theurer (1982). Entretanto, a hidrólise dos aminoácidos foi modificada⁴. Esta modificação consistiu no seguinte: as amostras com HCl foram autoclavadas durante 18 horas para hidrólise, em vez de serem hidrolizadas em ampolas seladas sob condições a vácuo.

RESULTADOS

Fluxo de nitrogênio: ATC vs. indicadores

As estimativas do fluxo de nitrogênio, com base na concentração dos indicadores (Cr_2O_3 e lignina) em amostras representativas do fluxo diário da digesta duodenal, foram, em média, 10 a 15% superiores à estimativa baseada na medida do fluxo da digesta pela ATC (Tabela 2). Esta tendência foi consistente com a incompleta recuperação dos dois indicadores na digesta duodenal ($Cr_2O_3 = 93%$ e lignina = 89%).

As estimativas baseadas no Cr_2O_3 apresentaram menor variação do que aquelas baseadas na lignina em novilhos alimentados com dieta con-

⁴ B.L. Reed 1982. Comunicação pessoal.

TABELA 1. Composição das dietas.

Ingredientes	Dietas (%)	
	Concentrada	Volumosa
Feno de alfafa	5,00	83,00
Palha de trigo	7,00	17,00
Sorgo (grãos processados - SPF)	80,00	-
Farelo de algodão	8,00	-
Com base na matéria seca		
Proteína	12,59	14,92
Fibra em detergente neutro	7,20	40,33
Fibra em detergente ácido	3,30	10,73

TABELA 2. Fluxo médio de nitrogênio no duodeno (24 horas) expresso como percentagem da quantidade ingerida.

Métodos	Dieta concentrada		Dieta volumosa	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
ATC	129 ^a	19	87	13
Cr ₂ O ₃	140 ^{a,b}	16	101	33
Lignina	153 ^b	32	99	18
Média		140 ^c		97 ^d

Média de quatro animais e três a seis dias de coleta.

^{a,b} significativamente diferente ($P < 0,05$) dentro da coluna.

^{c,d} significativamente diferente ($P < 0,01$) entre colunas.

centrada. O inverso ocorreu quando esses mesmos novilhos receberam dieta volumosa.

A variação entre dias e animais (coeficientes de variação de 15% para ATC e 20% para os dois indicadores) sugere que os procedimentos de coleta e a amostragem são muito críticos para minimizar esta variação, visando a utilização de dados de tais estimativas, em termos de valores absolutos da magnitude da digestão protéica no rúmen.

Fluxo de nitrogênio: concentrado vs. volumoso

O fluxo de nitrogênio, expresso como percentagem da quantidade ingerida, foi maior ($P < 0,05$) na dieta concentrada do que na dieta volumosa (Tabela 2). Para todos os métodos de estimativa do fluxo, a quantidade diária de nitrogênio passando no duodeno foi sempre maior do que a

ingestão em novilhos recebendo a dieta concentrada. Em contraste, isso não ocorreu quando esses mesmos novilhos receberam a dieta volumosa.

A ingestão de matéria seca foi semelhante em ambas as dietas, mas a concentração de proteína bruta foi mais alta na dieta volumosa do que na dieta concentrada (14,9% vs. 12,6% na MS). Esse fato pode ter acentuado o efeito da dieta (volumoso vs. concentrado) no fluxo de nitrogênio do rúmen para o intestino.

Fluxo de aminoácidos: concentrado vs. volumoso

O fluxo duodenal de todos os aminoácidos determinados, expresso em valores percentuais das quantidades ingeridas, foi sempre maior na dieta concentrada do que na dieta volumosa (Tabela 3). Essa diferença, especialmente no que concerne ao DAP, sugere que ocorreu maior síntese de proteína no rúmen, nos animais que receberam a dieta concentrada.

O fluxo do rúmen para o duodeno foi maior do que a ingestão para a maioria dos aminoácidos na dieta concentrada e somente para alguns aminoácidos na dieta volumosa. Na Tabela 4, estão apresentados os aminoácidos essenciais (exceto TRY e MET + CYS que não foram considerados por problemas analíticos). LYS, THR e ILE

TABELA 3. Fluxo de aminoácidos no duodeno, expresso como percentagem da quantidade ingerida.

Aminoácidos	Dieta concentrada	Dieta volumosa
LYS	291	129
HIS	130	89
ARG	126	90
ASP	167	78
THR	195	113
SER	160	100
GLU	143	113
PRO	108	59
GLY	182	110
ALA	142	114
VAL	151	96
DAP	850	415
ILE	174	110
LEU	122	100
TYR	217	140
PHE	140	103

Média de quatro animais e três a seis dias de coleta.

TABELA 4. Quantidade média de aminoácidos essenciais ingerida e chegando ao duodeno (g/24 h).

Aminoácidos essenciais	Dieta concentrada		Dieta volumosa	
	Ingerida	Duodeno	Ingerida	Duodeno
LYS	11,6	33,9	21,6	27,8
HIS	9,0	11,7	8,3	7,4
ARG	21,2	26,8	17,7	16,0
THR	13,1	25,5	17,6	19,8
VAL	21,2	32,1	23,8	22,9
ILE	16,1	28,0	18,9	20,8
LEU	45,8	55,8	31,2	31,2
PHE	20,6	28,8	20,6	21,2

Média de quatro animais e três a seis dias de coleta.

foram os três dos aminoácidos essenciais que maior ganho líquido apresentaram, devido à digestão ruminal na dieta concentrada, e os únicos na dieta volumosa.

Foram constatadas diferenças na proporção entre aminoácidos no fluxo duodenal em relação ao ingerido (percentagem do ingerido) dentro de cada dieta. Assim, a proporção entre aminoácidos foi diferencialmente alterada devido à digestão ruminal, sugerindo uma síntese diferencial de aminoácidos no rúmen, de acordo com a proporção concentrado: volumoso na dieta. Entretanto, reconhece-se que a qualidade e o nível de proteína nas dietas podem ter acentuado essa síntese diferencial de aminoácidos.

DISCUSSÃO

As diferenças observadas entre os métodos utilizados para a estimativa do fluxo duodenal de nitrogênio, foram semelhantes àsquelas encontradas por Wanderley (1982), para estimativa do fluxo da digesta e da matéria seca da digesta. As variações, em termos de desvio padrão, nas estimativas do fluxo de nitrogênio pelo Cr_2O_3 ou lignina, mostraram a mesma tendência diferencial observada por Wanderley (1982), na estimativa da digestibilidade ruminal aparente da matéria seca (menor variação nas estimativas com o Cr_2O_3 na dieta concentrada e com lignina da dieta volumosa).

Alguns fatores da dieta afetam consideravelmente a degradação da proteína do alimento e a

síntese microbiana no rúmen e, conseqüentemente, exercem grande influência no fluxo do nitrogênio e da proteína do rúmen para o intestino (Theurer 1979). O mesmo autor também mencionou os indicadores e os procedimentos de amostragem da digesta como outros fatores de fundamental importância para a estimativa da digestão protéica no rúmen, fato este que está de acordo com os dados do presente estudo.

Uma vez que vários fatores da dieta afetam a digestão protéica no rúmen e que os métodos de estimativas do fluxo freqüentemente variam entre diferentes pesquisas, é muito difícil a comparação de resultados entre pesquisas, sendo essa comparação possível apenas em termos de valores relativos.

Dados obtidos através de coleta total automática de longa duração, em vacas leiteiras (Tamminga 1979 e Tamminga et al. 1979), mostraram valores médios do fluxo duodenal de nitrogênio variando entre 110 e 134% da quantidade ingerida, o que está de acordo com os valores observados na dieta concentrada do presente estudo. Variando a concentração protéica na dieta, Tamminga et al. (1979) observaram que o fluxo de nitrogênio variou entre 84 e 108% da quantidade ingerida em dietas com 19 a 24% de proteína bruta, entre 118 e 143% em dietas com 13% de proteína bruta, entre 133 e 179% em dietas contendo 11% de proteína bruta.

Os valores observados no presente estudo, quanto à dieta concentrada, também estão em concordância com aqueles obtidos por Drennan et al. (1970), Orskov et al. (1971), Porter et al.

(1970), Rahnema (1977) e Muntifering (1980), que estimaram o fluxo de nitrogênio passando pelo abomaso, com base no Cr_2O_3 , obtendo, em média, valores entre 124 e 143% do ingerido em bovinos e ovinos recebendo dietas concentradas. Jackson et al. (1971), também com base no Cr_2O_3 , estimaram a quantidade de N passando no duodeno de ovinos alimentados com dietas concentradas, entre 14 e 62% maior que a ingerida. Valores semelhantes também foram observados por Faichney & White (1977), utilizando Cr-EDTA/Ru-Phe como indicadores da fase líquida e sólida da digesta, em amostras abomasais com ovinos recebendo dieta concentrada.

Os dados relativos às dietas volumosas são muito variados de experimento para experimento, devido à grande variabilidade entre experimentos nos diversos fatores dietéticos, que interagem sobre a digestão ruminal da fração protéica e fluxo de N do rúmen para o intestino. Mesmo assim, os dados do presente estudo, concernentes à dieta volumosa, estão relativamente de acordo com aqueles encontrados por Weller et al. (1971), Kropp et al. (1977), Lindsay & Hogan (1972), Hume & Purser (1975), Ulyatt et al. (1975), Amos & Evans (1976) e Amos et al. (1976).

Comparações diretas do efeito da dieta (concentrado vs. volumoso) sobre o fluxo de N do rúmen para o intestino (ou reciclagem de nitrogênio) são limitadas (Neudoerffer et al. 1971 e Cole et al. 1976). Mesmo assim, segundo Theurer (1979) e Oldham & Tamminga (1980), tudo faz crer que a proporção concentrado:volumoso na dieta tem grande efeito na digestão protéica no rúmen e, conseqüentemente, no fluxo de N a AA do rúmen para o intestino.

Downes (1961) sugeriu que, no mínimo, oito dos dez aminoácidos essenciais para o rato seriam, também, essenciais para o ruminante ao nível do tecido. MET, LYS e THR foram considerados como os aminoácidos mais limitantes para vacas de leite (Erfle & Fisher 1977) e para bovinos em crescimento (Richardson & Hatfield 1978).

Os dados obtidos no presente estudo evidenciaram um efeito benéfico no que concerne ao fluxo duodenal de LYS e THR, entre outros, com o aumento de carboidrato não-estrutural na dieta. Tamminga (1979) destacou que, para uma má-

xima produção de proteína microbiana no rúmen, deverá existir uma proporção ótima entre carboidrato não-estrutural e estrutural na dieta, mas que esta ótima proporção ainda não foi claramente estabelecida. Os dados obtidos no presente estudo indicam que esta proporção ideal entre carboidrato estrutural e não-estrutural pode também existir no sentido de um fluxo máximo de proteína (microbiana e alimentar que escapa à degradação animal) chegando ao intestino. Por outro lado, os dados obtidos também suportam claramente a teoria de que a proporção volumoso:concentrado na dieta afeta a digestão protéica no rúmen e, em conseqüência, a quantidade e proporção dos aminoácidos presentes no intestino.

CONCLUSÕES

Estimativas indiretas, baseadas na concentração de Cr_2O_3 e lignina em amostras do fluxo diário da digesta, têm uma tendência para superestimar em cerca de 10 a 15% o fluxo duodenal de nitrogênio, devido à incompleta recuperação daqueles indicadores na digesta duodenal. A grande variação dos valores estimados, pelo uso da lignina nos novilhos recebendo a dieta concentrada e pelo uso do Cr_2O_3 nos novilhos recebendo a dieta volumosa, sugere que os resultados obtidos pela coleta total automática, em períodos superiores a três dias, são muito mais consistentes para estudos que incluam dietas com diferentes proporções concentrado:volumoso.

Os dados do presente estudo também sugerem um maior fluxo de nitrogênio e aminoácidos do rúmen para o intestino com o aumento da proporção do carboidrato não-estrutural da dieta, suportando a hipótese de que a proporção concentrado:volumoso na dieta afeta, de modo marcante, a digestão protéica no rúmen. Uma síntese diferencial de aminoácidos ocorre no rúmen como conseqüência da influência desse fator (proporção concentrado:volumoso) na dieta. Mais estudos são necessários para o estabelecimento da proporção adequada entre carboidrato estrutural e não-estrutural na dieta, para que haja um fluxo máximo de aminoácidos chegando ao intestino.

REFERÊNCIAS

- AMOS, H.E.; ELY, D.G.; LITTLE, C.O. & MITCHELL JUNIOR, G.E. Nitrogen components in the digesta of sheep fed corn gluten meal and urea. *J. Anim. Sci.*, 31(4):767-71, 1970.
- AMOS, H.E. & EVANS, J. Supplementary protein for low quality bermudagrass diets and microbial protein synthesis. *J. Anim. Sci.*, 43(4):861-8, 1976.
- AMOS, H.E.; EVANS, J. & BURDICK, D. Abomasal protein recovery and microbial protein synthesis in wethers fed high and low quality forage diets. *J. Anim. Sci.*, 42(4):970-6, 1976.
- COLE, N.A.; JOHNSON, R.R.; OWENS, F.N. & MALES, J.R. Influence of roughage level and corn processing method on microbial protein synthesis by beef steers. *J. Anim. Sci.*, 43(2):497-503, 1976.
- DOWNES, A.M. On the amino acids essential for the tissues of the sheep. *Aust. J. Biol. Sci.*, 14:254-9, 1961.
- DRENNAN, M.J.; HOLMES, J.H.G. & GARRETT, W.N. A comparison of markers for estimating magnitude of rumen digestion. *Br. J. Nutr.*, 24:961-70, 1970.
- ERFLE, J.D. & FISHER, L.J. The effects of intravenous infusion of lysine, lysine plus methionine or carnitine on plasma amino acids and milk production of dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.*, 57(1):101-9, 1977.
- FAICHNEY, G. J. & WHITE, G. A. Formaldehyde treatment of concentrate diets for sheep. I. Partition of the digestion of organic matter and nitrogen between the stomach and intestines. *Aust. J. Agric. Res.*, 28(6):1055-67, 1977.
- GALYEAN, M.L.; PROGGE, E.C.; WAGNER, D.G.; OWENS, F.N. & JOHNSON, R.R. Ruminant protein utilization of processed corns. *J. Anim. Sci.*, 41:400, 1975.
- GOSHTASBPOUR-PARSI, B.G.; ELY, D.G. & BOLING, J.A. Influence of level of feed consumption on nitrogen components reaching the omasum and abomasum of lambs. *J. Anim. Sci.*, 44(2):271-5, 1977.
- HUME, I.D.; MOIR, R.J. & SOMERS, M. Synthesis of microbial protein in the rumen. I. Influence of the level of nitrogen. *Aust. J. Agric. Res.*, 21:283, 1970.
- HUME, I.D. & PURSER, D.B. Ruminant and post-ruminant protein digestion in sheep fed on subterranean clover harvested at four stages of maturity. *Aust. J. Agric. Res.*, 26:199, 1975.
- JACKSON, P.; ROOK, A.F. & TOWERS, K.G. Influence of the physical form of barley grass or barley straw diet on nitrogen metabolism in sheep. *J. Dairy Res.*, 38:33, 1971.
- KEMPTON, T.J.; NOLAN, J.V. & LENG, R.A. Principles for the use of non-protein nitrogen and by-pass proteins in diets of ruminants. *World Anim. Review.*, (22):2-10, 1977.
- KROPP, J.R.; JOHNSON, R.R.; MALES, J.R. & OWENS, F.N. Microbial protein synthesis with low quality roughage rations: level and source of nitrogen. *J. Anim. Sci.*, 45(4):844-54, 1977.
- LINDSAY, J.R. & HOGAN, J.P. Digestion of two legumes and rumen bacterial growth in defaunated sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 23:321, 1972.
- LING, J.R. & BUTTERY, P.J. The simultaneous use of ribonucleic acid, ^{35}S , 2,6 - diaminopimelic acid and 2 - aminoethylphosphonic acid as markers of microbial nitrogen entering the duodenum of sheep. *Br. J. Nutr.*, 39:165-79, 1978.
- MUNTIFERING, R.B. Monensin and nitrogen utilization by steers feed concentrate diets. Tucson, University of Arizona, 1980. Tese.
- NEUDOERFFER, T.S.; LEADBEATER, P.A.; HORNEY, D.F. & BAYLEY, H.S. The influence of grain intake on protein digestion in the intestine of cattle. *Br. J. Nutr.*, 25:543, 1971.
- OLDHAM, J.D. & TAMMINGA, S. Amino acid utilization by dairy cows. I. Methods of varying amino acid supply. *Livestock Prod. Sci.*, 7(5):437-52, 1980.
- ORSKOV, E.R.; FRASER, C. & MCDONALD, I. Digestion of concentrates in sheep. 2. The effect of urea or fishmeal supplementation of barley diets on the apparent digestion of protein, fat, starch and ash in the rumen, the small intestine and the large intestine, and calculation of volatile fatty acid production. *Br. J. Nutr.*, 23:243-52, 1971.
- PORTER, G.D.; MCNEILL, J.W. & RIGGS, J.K. Utilization of processed sorghum grain proteins by steers. *J. Anim. Sci.*, 32(3):540-3, 1970.
- PRIGGE, E.C.; GALYEAN, M.L.; OWENS, F.N.; WAGNER, D.G. & JOHNSON, R.R. Microbial protein synthesis in steers fed processed corn rations. *J. Anim. Sci.*, 46(1):249-54, 1978.
- RAHNEMA, S. Ruminant and post-ruminant utilization of sorghum grain protein by steers. Tucson, University of Arizona, 1977. Tese.
- RICHARDSON, C.R. & HATFIELD, E.E. The limiting amino acids in growing cattle. *J. Anim. Sci.*, 46(3):740-5, 1978.
- SILVA, J.F. C. da; SEELY, R.C.; THOMPSON, D.J.; BEEVER, D.E. & ARMSTRONG, D.G. The effect in sheep of physical form on the sites of digestion of a dried lucerne diet. 2. Sites of nitrogen digestion. *Br. J. Nutr.*, 28:43-61, 1972.
- SUTTON, J. D.; SMITH, R. H.; MCALLAN, A. B.; STORRY, J.E. & CORSE, D.A. Effect of variations in dietary protein and of supplements of cod-liver oil on energy digestion and microbial synthesis in the rumen of sheep fed hay and concentrates. *J. Agric. Sci.*, 84(2):317-26, 1975.
- TAMMINGA, S. The influence of protein source on the protein digestion in the ruminant. *Z. Tierphysiol Tierernährg, u. Futtermittelkde.* 32:185-93, 1973.
- TAMMINGA, S. The influence of the method of preservation of forages on the digestion in dairy cows. 2.

- Digestion of organic matter, energy and amino acids in forestomachs and intestines. *Neth. J. Agric.*, 23: 89-103, 1975.
- TAMMINGA, S. Relation between different carbohydrates and microbial synthesis of protein. Lelystad, Netherlands, Institute for Livestock Feeding and Nutrition, 1979. (Report, 130).
- TAMMINGA, S.; KOELEN, C.F. van der & VUUREN, A. M. van. Effect of the level of feed intake on nitrogen entering the small intestine of dairy cows. *Livestock Prod. Sci.*, 6:255-62, 1979.
- THEURER, C.B. Microbial protein estimation using DAP, AEP and other amino acids as markers. In: SYMPOSIUM OF PROTEIN REQUIREMENTS FOR CATTLE, Oklahoma, 1982. Proceedings . . . Oklahoma, Oklahoma State University, 1982. p.10-22, (MP 109 Oklahoma State University).
- THEURER, C.B. Microbial protein synthesis as affected by diet. In: HALE, W.H. & MEINHARDT, P. Regulation of acid-base balance. Piscataway, N.J. Church and Dwight, 1979. p.97.
- THEURER, C.B.; WOODS, W. & POLEY, G.E. Influence of source of nitrogen on performance and plasma amino acid patterns of lambs. *J. Anim. Sci.*, 27(4): 1059-66, 1968.
- ULYATT, M.J.; MACRAE, J.C.; CLARKE, R.T.J. & PEARCE, P.P. Quantitative digestion of fresh herbage by sheep. IV. Protein synthesis in the Stomach. *J. Agric. Sci., Camb.*, 84(3):453-8, 1975.
- WANDERLEY, R.C. Automated total collection and indicator methods for estimating digesta flow in steers fed roughage or concentrate diets. Tucson, University of Arizona, 1982. Tese.
- WELLER, R.A.; PILGRIM, A.F. & GRAY, F.V. Level of food intake and the passage of markers and nitrogen along the alimentary tract of sheep. *Br. J. Nutr.*, 26:487, 1971.
- ZINN, R.A.; BULL, L.S. & HENKEN, R.W. Degradation of supplemental proteins in the rumen. *J. Anim. Sci.*, 52(4):857-66, 1981.