

MARIO LUIZ CHIZZOTTI

**AVALIAÇÃO DA CASCA DE ALGODÃO PARA NOVILHOS DE
ORIGEM LEITEIRA E DETERMINAÇÃO DA EXCREÇÃO DE CREATININA E
PRODUÇÃO DE PROTEÍNA MICROBIANA EM NOVILHAS E VACAS
LEITEIRAS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C543a
2004

Chizzotti, Mario Luiz, 1980-

Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem
leiteira e determinação da excreção de creatinina e produ-
ção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras.
– Viçosa : UFV, 2004.
xv, 132f. : il. ; 29cm.

Orientador: Sebastião de Campos Valadares Filho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Ruminante - Nutrição. 2. Casca de algodão na nutri-
ção animal. 3. Creatinina - Excreção. 4. Uréia. 5. Alan-
toína. 6. Ácido úrico. I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

CDD 20.ed. 636.2085

MARIO LUIZ CHIZZOTTI

AVALIAÇÃO DA CASCA DE ALGODÃO PARA NOVILHOS DE ORIGEM
LEITEIRA E DETERMINAÇÃO DA EXCREÇÃO DE CREATININA E
PRODUÇÃO DE PROTEÍNA MICROBIANA EM NOVILHAS E VACAS
LEITEIRAS

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia, para obtenção do Título de
Magister Scientiae.

Aprovada em 16 de fevereiro de 2004

Prof^a. Maria Ignez Leão
(Conselheira)

Prof^a. Rilene Ferreira Diniz Valadares
(Conselheira)

Prof. Mário Fonseca Paulino

Prof. Odilon Gomes Pereira

Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Mario e Terezinha, pelo apoio e incentivo para a realização deste curso.

Às minhas queridas irmãs, Juliana e Ana Flávia, pelo carinho e convivência harmoniosa.

À minha noiva, Fernanda, pelo indispensável auxílio durante o curso, pelo amor recebido e pelo companheirismo.

Aos meus demais parentes, pela preocupação, pela torcida e pelos conselhos ao longo desses anos.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa, por minha formação, e em especial ao Departamento de Zootecnia, pela realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus pais e às minhas irmãs.

À minha amada noiva Fernanda.

À minha avó Clorinda e aos meus avós Mario, Batista e Luíza que não estão mais aqui para que eu os agradecesse pessoalmente, pela construção de uma sólida base familiar.

Aos meus tios Toninho, Zé, Lenita (*in memoriam*), Margarida, Silvia, Nádia, Nelson, Mara, Peta, João, Helvécio, Líbera, Antônio, Maria José, e demais familiares por tudo que fizeram por mim.

Ao prof. Sebastião de Campos Valadares Filho pelos ensinamentos e apoio nessa jornada de estudos, pelo companheirismo e confiança e pela excelente orientação.

À prof^a. Rilene Ferreira Diniz Valadares, pelo carinho e amizade, pelos conselhos e pelas oportunidades concedidas que possibilitaram a realização deste trabalho.

À prof^a. Maria Ignez Leão pela fistulação dos animais, pelos conhecimentos transferidos e pela companhia e agradável amizade.

Aos professores, Mário Paulino, Odilon, José Maurício, Obeid, Rogério Lana, Marcelo, Bajá, Aloízio, Paulo Sávio, Robledo, Giovane, Théa, e demais professores do Departamento de Zootecnia e dos demais Departamentos da Universidade Federal de Viçosa pelo conhecimento transferido.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da UFV: Joélcio, Zé Geraldo, Marcelo e Pum do Laboratório Animal; Zé Antônio, Gaguinho, Almiro, Zezé, e demais funcionários da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite; Monteiro, Fernando, Raimundo, Vera e Valdir, do Laboratório de Nutrição Animal e Adilson, Celeste, Rosana, Márcia, Mario, Venâncio, Cleone e Fernanda pelo auxílio fundamental para a realização deste trabalho e pela amizade e agradável convivência.

Aos estagiários e bolsistas de iniciação científica Marcos, Douglas, Marlos, Mozart, Léo, Juliana, Thalita, Alexandre, Mônica, Polyana, Mosquito, Márcio, Paçoca, Kamila e Sílvia pelo comprometimento com o trabalho e auxílio na condução dos experimentos e durante as análises laboratoriais, serei eternamente grato pela ajuda de vocês.

Aos amigos Alex, Wilksom e Marcos e a minha noiva Fernanda pela companhia durante as frias madrugadas das coletas totais dos experimentos.

Aos amigos da turma da Zootecnia de 1998: Wilkson, Alex, Antônio, Fred, Lidson, Rafael, Vinícius, Léo, George, Tigrão, Cris, Jaqueline, Mônica, Polyana, Bruno, Valquíria e os demais, pela amizade e convivência construtiva.

Aos amigos pós-graduandos da UFV Chico Rennó, Silas, Anselmo, Dalton, Karla, Pedro, Leidmara, Passarinho, Amélia, Kátia, Casé, Reinaldo, Foquinha, Carla, Rodolpho, Robson, Márvio, Mariana, Marinaldo, Fernando, Acir, Fernanda, Luciana Rennó, Eduardo Kling, Tiago, Bruno, Viviane, Maria Andréa, Eduardo Gaúcho, Alfredo e demais colegas pela amizade, pelos conselhos e pelo apoio concedido durante a realização do curso.

Aos amigos de Viçosa Patrícia Bhering Fialho, Patrick, Marcelo, Fábio, Aloisinho, Alexandre, Tiago, Maísa, George, Breno e outros pelos momentos de descontração.

A todos os amigos da pelada da Violeira, em especial ao Bastião, Kita, Herly, Baiano, Juninho, João, Maurão, Bigode, Bigodinho, Vagão, Seu Mingote e Dona Marieta, pela união, pelos grandes jogos e pela intensa diversão após as partidas de Sábado.

À Marilza pela organização de nossa casa e ao Geraldinho, Elias e demais porteiros pelo apoio prestado.

Às pessoas que diretamente ou indiretamente contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade e que sempre serão lembradas com respeito e carinho.

BIOGRAFIA

MARIO LUIZ CHIZZOTTI, filho de Mario Chizzotti Filho e Terezinha Albino Destro Chizzotti, nasceu em Bocaina, São Paulo, em 10 de maio de 1980.

Em setembro de 2002, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em setembro de 2002, iniciou o Curso de mestrado em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de tese em 16 de fevereiro de 2004.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUÇÃO.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11
Avaliação Nutricional da Casca de Algodão para Novilhos de Origem	
Leiteira.....	16
Resumo	16
Abstract	18
Introdução	20
Material e Métodos	22
Resultados e Discussão	29
Conclusões	42
Referências Bibliográficas.....	42
Excreção de Creatinina em Bovinos Holandeses	
Resumo	47
Abstract	49
Introdução	51
Material e Métodos	52
Resultados e Discussão	57
Conclusões	65
Referências Bibliográficas.....	66
Consumo, Digestibilidade, Excreção de Uréia e Derivados de Purinas	
em Vacas de Diferentes Níveis de Produção de Leite	68
Resumo	68
Abstract	70
Introdução	72
Material e Métodos	75
Resultados e Discussão	82
Conclusões	96

Referências Bibliográficas.....	97
Consumo, Digestibilidade, Excreção de Uréia e Derivados de Purinas em Novilhas de Origem Leiteira de Diferentes Pesos Vivo	102
Resumo	102
Abstract	104
Introdução	106
Material e Métodos	108
Resultados e Discussão	114
Conclusões	125
Referências Bibliográficas.....	125
RESUMO E CONCLUSÕES	129

RESUMO

CHIZZOTTI, Mario Luiz, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2004. **Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras.** Orientador: Sebastião de Campos Valadares Filho. Conselheiros: Maria Ignez Leão e Rilene Ferreira Diniz Valadares.

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de quatro experimentos. No primeiro foram utilizados quatro animais de grau de sangue predominantemente Holandês, fistulados no rúmen, com peso médio de 259 kg, objetivando-se avaliar o efeito dos níveis de casca de algodão na dieta de bovinos sobre os consumos e digestibilidades totais e parciais da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT), a produção de proteína microbiana, a concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS) e de amônia no rúmen e a excreção de compostos nitrogenados na urina. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4X4, sendo quatro animais, quatro períodos experimentais e quatro tratamentos (níveis crescentes de casca de algodão peletizada: 0, 10, 20 e 30%, em substituição na base da matéria seca à silagem de capim-elefante como volumoso), sendo a dieta total constituída de 60% de volumoso. Verificou-se que os níveis de casca de algodão aumentaram linearmente o

consumo diário de todos os nutrientes, tanto em kg quanto em % do peso vivo. As análises de variância não evidenciaram influência dos diferentes tratamentos sobre o pH e concentrações de amônia ruminais, as digestibilidades totais e parciais dos nutrientes e conseqüentemente, não houve efeito sobre o teor NDT das dietas que foi em média 59,53%. O NDT calculado da casca de algodão foi de 55,52%. A concentração de NUS e a excreção de uréia (em mg/kgPV) na urina diminuíram enquanto a excreção urinária de derivados de purinas (DP) na urina aumentou linearmente com a inclusão de casca de algodão nas dietas. A casca de algodão mostrou-se um bom volumoso alternativo, podendo ser fornecida até o nível de 30% na MS total na dieta de novilhos de origem leiteira. No segundo Experimento, objetivou-se avaliar o efeito do nível de produção de leite sobre os consumos e as digestibilidades da MS, MO, EE, PB, FDNcp e CNF, o consumo de NDT e de proteína degradável no rúmen (PDR), a produção de proteína microbiana, a concentração de amônia no rúmen e a excreção de compostos nitrogenados na urina. Avaliaram-se as concentrações de N uréico no soro (NUS) e no leite (NUL), de animais de diferentes produções de leite. Foram comparadas as metodologias de coleta de urina *spot* e total para a quantificação do fluxo de N microbiano. Foram utilizadas 15 vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, alocadas em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos em função do nível de produção de leite (produção de leite média de 5,88, 18,54 e 32,6 kg/dia para os tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA). A dieta foi constituída de silagem de milho à vontade e um kg de concentrado para cada três kg da média de leite produzido. Os consumos de todos os nutrientes, exceto de FDNcp, foram influenciados pela produção de leite. As digestibilidades da MS e da MO e o teor de NDT não diferiram entre os tratamentos, enquanto as digestibilidades da PB e da FDNcp, foram influenciadas pelo nível de produção sendo maior e menor, respectivamente, no tratamento ALTA. A presença de cinzas e proteína na FDN subestimou a digestibilidade da FDN e superestimou a dos CNF. Os teores de NUS e NUL e a excreção de compostos nitrogenados na urina foram altamente correlacionados e superiores nos animais mais produtivos, indicando que a concentração ótima varia com o nível de produção de leite. A produção microbiana não diferiu entre as metodologias

de coleta de urina *spot* e total, sendo inferior nos animais menos produtivos. No terceiro, 22 novilhas com diferentes pesos, foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (peso médio de 523, 453, 315, 235 e 118 kg para os tratamentos I, II, III, IV e V, respectivamente). A alimentação foi constituída de silagem de milho a vontade e 1,5 kg de concentrado por dia para as novilhas dos tratamentos I, II, III e IV, e dois kg de concentrado para as novilhas do tratamento V. Os objetivos foram similares aos do segundo Experimento. Quando expresso em relação ao peso das novilhas, o consumo de MS foi negativamente correlacionado com o peso dos animais. As digestibilidades da MS e da MO e o teor de NDT não diferiram entre os tratamentos, enquanto as digestibilidades da PB e da FDNcp, foram distintas entre os tratamentos, sendo maior e menor, respectivamente, no tratamento V. A presença de cinzas e proteína na FDN subestimou a digestibilidade da FDN e superestimou a dos CNF. Os teores de NUS e a excreção de N e de uréia na urina (em mg/kgPV) foram altamente correlacionados e superiores nas novilhas menores, e variaram com o peso vivo e com o teor de PB e PDR na dieta. A produção microbiana não diferiu entre as metodologias de coleta de urina *spot* e total, sendo inferior nas novilhas menores. No quarto Experimento, foram utilizadas 15 vacas lactantes com produção de leite média de 24 kg/dia, em blocos ao acaso, objetivando-se avaliar quatro tempos de duração da coleta total de urina (seis, 12, 18 e 24 horas) sobre a estimativa da excreção diária de creatinina. Não foram encontradas diferenças entre a estimativa da excreção de creatinina, obtida pelos tempos de coleta de seis, 12 e 18 horas e a observada em 24 horas, logo a excreção nos períodos diurno e noturno foi similar. A excreção de creatinina pelas vacas do Experimento IV foi, em média, de 24,07 mg/kgPV. Também foram avaliadas as excreções de creatinina nos demais experimentos. Os níveis de casca de algodão não influenciaram a excreção de creatinina nos novilhos do primeiro Experimento, que foi em média de 27,99 mg/kgPV. A excreção de creatinina pelas vacas do segundo Experimento não foi influenciada pela produção de leite, apresentando valor médio de 24,04 mg/kgPV. No terceiro Experimento a excreção de creatinina (EC, em mg/KgPV) aumentou

linearmente com a diminuição no peso das novilhas, de acordo com a seguinte equação: $EC(mg/kgPV) = 32,27 - 0,01093 \cdot PV(kg)$.

ABSTRACT

CHIZZOTTI, Mario Luiz, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February of 2004. **Evaluation of cottonseed hulls to dairy steers and determination of creatinine excretion and microbial synthesis in heifers and lactating cows.** Adviser: Sebastião de Campos Valadares Filho. Committee Members: Maria Ignez Leão and Rilene Ferreira Diniz Valadares.

This work was developed based on four experiments. In the first it was utilized four predominantly Holstein steers, fitted with rumen cannulae, with average weight of 259 kg, aiming to evaluate the effect of cottonseed hulls levels in the diet on intakes and total and partial digestibilities of the dry matter (DM), organic matter (OM), ether extract (EE), crude protein (CP), neutral detergent fiber corrected to ashes and protein (NDFap) and non-fiber carbohydrates (NFC), on the intake of total digestible nutrients (TDN), on the microbial protein synthesis, on the serum urea nitrogen (SUN) and ruminal ammonia concentration and on the urinary nitrogenous compounds excretion. The design was in 4x4 square lattice, with four animals, four periods and four treatments (increasing levels of peletized cottonseed hulls: 0, 10, 20 and 30% in dry matter basis in substitution of elephantgrass silage as roughage), being the total diet constituted of 60% roughage. It was verified that the cottonseed hulls levels increased linearly the daily intake of all nutrients, in kg and in % of the live weight. The variance analyses didn't evidence influence of the treatments on ruminal pH and ruminal ammonia

concentrations, on total and partials nutrients digestibilities and consequently there wasn't effect on TDN of the diets, which was, in average, 59.53%. The calculated TDN of cottonseed hulls was 55.52%. The SUN concentration and urinary urea excretion (in mg/kgLW) decreased while the urinary purine derivatives (PD) excretion increased linearly with the cottonseed hulls inclusion on the diets. The cottonseed hulls was a good alternative roughage, could be supplied until 30% (DM) of the dairy steer's diet. In the second experiment, it was aimed to evaluate the effect of the milk production level on intakes and digestibilities of the DM, OM, EE, CP, NDFap, NFC, on the TDN and ruminally degraded protein (RDP) intakes, on the microbial protein synthesis, on the ruminal ammonia concentration and on the urinary nitrogenous compounds excretion. It was evaluated the SUN concentration and milk urea nitrogen (MUN) concentrations in cows with different milk production. The spot urine sampling and urine total collection methodologies were compared to quantify de microbial N flow. 15 Holstein cows, pure and crossbred, were allocated in a completely randomized design, with three treatments in function of the milk production level (average milk production of 5.88, 18.54 and 32.6 kg/day to treatments HIGH, MEDIUM and LOW). The diet was constituted of corn silage *ad libitum* and one kg of concentrate to each three kg of average milk produced. The intakes of all nutrients, except NDFap, were influenced by milk production. The DM and OM digestibilities and TDN content didn't differ among the treatments, while the CP and NDFap digestibilities were influenced by the production level being larger and smaller in the treatment HIGH, respectively. The presence of ashes and protein in NDF underestimated the digestibilities of NDF and overestimated the digestibilities of NFC. The MUN and SUN concentrations and the urinary N excretion were highly correlated and superiors in the most productive animals, indicating that the optimum concentration varies with the milk production level. The microbial synthesis didn't differ among the urinary sampling spot and total collection methodologies, and was smaller in the less productive cows. In the third, 22 heifers with different live weight, were allocated in a completely randomized design with five treatments (average 523, 453, 315, 235 and 118 kg to treatments I, II, III, IV and V, respectively). The diet was constituted of corn silage *ad libitum* and 1.5 kg/day of

concentrate to heifers of the treatments I, II, III and IV, and two kg/day of concentrate to heifers of the treatment V. The objectives were similar to those of the second Experiment. When expressed in relation to live weight, the DM intake was negatively correlated with the heifer's live weight. The DM and OM digestibilities and the TDN content didn't differ among the treatments, while the CP and NDFap digestibilities were different among the treatments, being higher and smaller in treatment V, respectively. The presence of ashes and protein in NDF underestimated the digestibilities of NDF and overestimated the digestibilities of NFC. The SUN concentration and urinary N excretion (in mg/kgLW) were highly correlated and superiors in the smaller heifers, and varied with the live weigh and with the CP and RDP content of the diet. The microbial synthesis didn't differ among the urinary spot sampling and total collection methodologies, and was smaller in the smaller heifers. In the forth Experiment, 15 lactating cows with average milk production of 15 kg/day were distributed in randomized blocks design, aiming to evaluate four different total urine collection times (6, 12, 18 and 24 hours) on the daily creatinine excretion. There were not detected differences among the estimation of creatinine excretion, obtained by the times of collection of six, 12 and 18 hours and the observed in 24 hours, soon the excretion in the periods of the day and night was similar. The creatinine excretion by the cows of the Experiment IV was, on average, of 24.07 mg/kgLW. They were also evaluated the creatinine excretion in the others experiments. The cottonseed hulls levels didn't influence the creatinine excretion in the steers of the first Experiment, which was, on average, of 27.99 mg/kgLW. The creatinine excretion by the cows of the second Experiment was not influenced by the milk production, and was, in average, of 24.04 mg/kgLW. In the third Experiment the creatinine excretion (CE, in mg/KgLW) increased linearly with the decrease in the live weight of the heifers, in agreement with the following equation: $CE(mg/kgLW) = 32.27 - 0.01093 * LW (kg)$.

INTRODUÇÃO

A pecuária bovina assume grande importância para a economia nacional, por gerar empregos, participar consideravelmente do PIB e contribuir na balança comercial brasileira. Além disso, a carne e o leite bovino constituem a principal fonte de proteína de origem animal na dieta da população do país.

A estabilização da inflação nacional inseriu o gado de corte no mundo dos negócios, diminuindo o valor da reserva de capital do rebanho e aumentando a importância do desfrute econômico do mesmo (Pineda, 2002). Desta forma, o baixo rendimento zootécnico da pecuária de corte, em muitos sistemas de exploração, tem sido expressivamente alterado pela intensificação da produção e utilização do confinamento como estratégia gerencial e alimentar.

A produção de leite ocupa espaço de destaque no agronegócio brasileiro e com perspectiva de assim permanecer ou mesmo expandir nos próximos anos. O agronegócio do leite e derivados tem se ajustado rapidamente às transformações na economia nacional, mediante a utilização de novas tecnologias e a ampliação da fronteira agrícola em direção a regiões de maior potencial produtivo e menores custos de produção (Vilela, 2002).

A cultura do algodão tem grande importância nacional por fornecer matéria prima para o setor têxtil, farmacêutico, hospitalar, pecuário e alimentício. O produto principal da cotonicultura é a fibra do algodão, mas do algodão em pluma aproveita-se praticamente tudo. Estima-se que a safra de 2003/2004 produzirá em torno de 1,85 milhões de toneladas de caroço de algodão (Conab, 2004) que pode ser utilizado na alimentação animal ou ser beneficiado produzindo óleo, farelo e a casca de algodão. Diversas pesquisas vêm sendo realizadas para determinar a forma de utilização do caroço e do farelo de algodão, porém, até o momento, são escassos os relatos na literatura nacional sobre a utilização da casca de algodão.

O consumo voluntário de alimentos, em quantidades suficientes para alcançar seus requerimentos de manutenção e produção, define primariamente o desempenho animal. A regulação da ingestão envolve sinais de fome e saciedade que operam através de vários mecanismos hormonais e neurais que não são completamente compreendidos. A acurácia da predição do consumo de matéria seca é fundamental na formulação de dietas para o correto

atendimento das exigências nutricionais. Mertens (1994) relatou que a ingestão de matéria seca (MS) é controlada por fatores físicos, fisiológicos e psicogênicos. Segundo esse autor, o mecanismo físico refere-se à distensão física do rúmen-retículo, o fisiológico é regulado pelo balanço energético e a regulação psicogênica envolve a resposta comportamental do animal, frente a fatores inibidores ou estimuladores no alimento, ou no manejo alimentar, que não é relacionada ao valor energético do alimento, nem ao efeito de enchimento. O consumo de matéria seca e a concentração energética da dieta são altamente correlacionados, de forma que, dietas com baixa digestibilidade e menos energia (geralmente ricas em fibra) limitam o consumo por enchimento do rúmen e/ou diminuição na taxa de passagem, enquanto o consumo de dietas ricas em energia e de alta digestibilidade (com pouca fibra) regulam a ingestão por atendimento às exigências energéticas do animal e por fatores metabólicos (NRC, 1996).

Além do conhecimento da composição bromatológica e da ingestão de alimentos, é importante o conhecimento da utilização dos nutrientes pelo animal, o qual é obtido por meio de estudos de digestão e de degradabilidade ruminal. Segundo Van Soest (1994), digestão pode ser definida como o processo de conversão de macromoléculas da dieta em compostos mais simples, que podem ser absorvidos no trato gastrointestinal dos animais. Medidas de digestibilidade dos nutrientes são úteis na qualificação dos alimentos quanto ao seu valor nutritivo.

As fontes protéicas são, geralmente, os ingredientes individualmente mais onerosos da dieta. Dietas com incorreto balanceamento protéico, normalmente, estão associadas com grandes perdas de N pela urina. Desta forma, tem sido objetivo da nutrição protéica de ruminantes, a formulação de dietas com teores de PB, proteína degradável e não-degradável no rúmen (PDR e PNDR) e aminoácidos ótimos. Entretanto, estes variam em função do potencial genético, do estágio de lactação, bem como da concentração de outros nutrientes na dieta, tais como, os carboidratos.

As estimativas dos requerimentos de proteínas para ruminantes são complexas, em função das alterações a que estas são submetidas no rúmen e, portanto, devem considerar além das exigências de proteína para o animal, o

requerimento de N e de energia para a síntese de proteína microbiana. Os teores de nitrogênio uréico no soro (NUS) e nitrogênio uréico no leite (NUL) têm sido utilizados com a finalidade de fornecer informações adicionais sobre o *status* da nutrição protéica de ruminantes, envolvendo a resposta metabólica destes a determinada dieta. Desta forma pode-se evitar as perdas econômicas advindas do fornecimento excessivo de nitrogênio na dieta, devido aos elevados custos destes suplementos e os possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais. Sob o aspecto energético, ressalta-se que a síntese de uréia no fígado (ciclo da uréia) acarreta gastos substanciais de energia, que deixa de ser aproveitada para a produção (Amaral-Phillips, 2003). Segundo Westwood et al. (1998), dietas com altos teores de proteína bruta agravam o balanço energético negativo observado no pós-parto, devido ao custo energético envolvido na síntese de uréia para detoxificação da amônia.

A uréia é uma pequena molécula orgânica resultante do metabolismo protéico, solúvel em água e permeável a todas as células e tecidos do corpo animal. Níveis de uréia podem ser analisados no sangue e no leite e são altamente correlacionados devido à livre difusão da uréia através do tecido mamário. Gustafsson & Palmquist (1993) observaram que a concentração de uréia presente no sangue demora cerca de uma a duas horas para se equilibrar com a concentração de uréia do leite presente na cisterna da glândula mamária.

A concentração de uréia pode ser avaliada no plasma (NUP) ou no soro sanguíneo (NUS), equilibrando-se facilmente entre o leite e o plasma ou soro. Quando N_{uréia} no leite (NUL) ou no plasma excede 19-20 mg/dL, a taxa de concepção pode ser reduzida em aproximadamente 20% (Butler et al., 1995).

Amostras de leite possuem a vantagem de serem facilmente obtidas de vacas em lactação, evitando-se assim o estresse da coleta de sangue, sendo também de menor custo e de mais fácil aceitação por parte dos proprietários (Moore & Varga, 1996). A concentração de uréia no leite está sujeita aos mesmos fatores de variação que afetam a concentração no sangue, ao longo do dia, só que, no leite observa-se uma menor oscilação em função deste ser armazenado na glândula mamaria e ser em geral ordenhado em apenas duas ocasiões (Ferguson, 2001). Assim, a concentração de N-uréia no leite constitui-

se em uma forma rápida, de baixo custo e não-invasiva de pesquisar a dinâmica da concentração de N-uréia no soro (Butler et al., 1995). Concentrações de NUS e NUL são altamente correlacionadas de forma que NUL serve como índice para NUS (Broderick, 1995). NUS geralmente atinge o máximo quatro a seis horas após a alimentação, além disso, as flutuações diárias são geralmente pequenas (dois a três mg/dL) em vacas alimentadas com dietas completas. A variação horária de NUL segue o mesmo padrão de NUS e NUP, podendo ser um parâmetro útil para avaliar a utilização da proteína em relação a sua ingestão (Butler et al., 1995). Os mesmos autores, analisando amostras obtidas a partir de 19 rebanhos de alta produção de leite, obtiveram um valor médio de NUL de 17,7 mg/dL (variando de 14,4 a 20,2 mg/dL). Hutjens & Barmore em 1995, citados por Broderick (1995), sugeriram que uma concentração de NUL de 12 a 17 mg/dL indicaria um ótimo balanceamento de proteína degradada no rúmen e energia fermentada no rúmen. Também valores de 10 a 16 mg/dL, dependendo da produção de leite, foram sugeridos por Jonker et al. (1999), que recomendaram a utilização de NUL para avaliar a excreção de nitrogênio em vacas de leite. Outros estudos propõem que os valores ideais devam se situar entre as faixas de 12 e 16 mg/dL (Hutjens, 1996; Jonker et al., 1998) ou 10 e 14 mg/dL (Moore & Varga, 1996; Ferguson, 2001).

Utilizando dados de 419 vacas em lactação, Broderick (1995) encontrou a seguinte equação relacionando NUP e NUL: $NUL = 0,587NUP + 5,57$ ($r^2=0,743$), enquanto Kauffman & St-Pierre (2001) obtiveram a equação $NUL = 0,89NUP - 1,96$ ($r^2 = 0,84$). Broderick & Clayton (1997) apresentaram a seguinte equação: $NUL \text{ (mg/dL)} = 0,62NUP + 4,75$ ($r^2 = 0,84$).

Considerando que o excesso de proteína na dieta resultará em aumentos na concentração de uréia sérica e na excreção urinária de compostos nitrogenados, esforços têm sido feitos para estimar a excreção urinária de nitrogênio (NU) a partir do NUL. Jonker et al. (1998) recomendaram a seguinte equação: $NU \text{ (g/dia)} = 12,54NUL \text{ (mg/dL)}$. Já Kauffman & St-Pierre (2001) propuseram que a regressão incluísse o peso vivo (PV), sugerindo a equação: $NU \text{ (g/dia)} = 0,0259PV \text{ (kg)} * NUL \text{ (mg/dL)}$. Entretanto, Sannes et al. (2002) observaram que as equações propostas por Jonker et al. (1998)

subestimaram a excreção de nitrogênio urinário a partir do NUL. Por outro lado, Kohn et al. (2002) recomendaram a equação descrita por Kauffman & St-Pierre (2001) para estimar NU a partir do NUL e do peso vivo.

As exigências dietéticas de proteína metabolizável para ruminantes são atendidas mediante a absorção no intestino delgado da proteína microbiana e proteína dietética não-degradada no rúmen digestíveis. A proteína microbiana pode suprir, aproximadamente, 50 a 100% da proteína metabolizável exigida para bovinos de corte (NRC, 1996), sendo considerada fonte de boa qualidade, com relação à sua digestibilidade intestinal (em torno de 80%) e ao seu perfil em aminoácidos, que é semelhante ao dos tecidos e da proteína do leite (Schwab, 1996, citado por Valadares Filho & Cabral, 2002). Diante de tais qualidades, tem sido objetivo da nutrição dos ruminantes, maximizar o fluxo desta para o intestino delgado destes animais. Para tanto, é necessário um melhor entendimento do processo de conversão dos nutrientes dietéticos em proteína microbiana e dos fatores que o afetam. Dos fatores que afetam a síntese de proteína microbiana, a disponibilidade e a sincronização entre energia e compostos nitrogenados (N) no rúmen, têm sido reconhecidos como os mais importantes (Russell et al., 1992). E, considerando que as proteínas são rápida e extensivamente degradadas no rúmen, provavelmente, a taxa na qual a energia é disponibilizada seja o fator mais limitante à síntese de proteína microbiana, uma vez que os carboidratos fibrosos apresentam lenta taxa de digestão. Desta forma, o fornecimento de quantidades moderadas de carboidratos não fibrosos, geralmente aumenta o fluxo de N microbiano para o abomaso, desde que não haja limitação de N disponível no rúmen (Valadares Filho & Cabral, 2002).

Devido à importância da proteína microbiana para o metabolismo protéico dos ruminantes, a quantificação do seu fluxo sob diferentes condições dietéticas e fisiológicas é fundamental para o atendimento dos requisitos em aminoácidos absorvidos. Com este propósito, vários indicadores microbianos (bases purinas, ácido 2,6 diaminopimélico-DAPA, ^{35}S e ^{15}N) têm sido utilizados, cada um com suas vantagens e limitações. Broderick & Merchen (1992) afirmaram que nenhum indicador é totalmente adequado, conseqüentemente, as estimativas obtidas são relativas e não-absolutas, e recomendaram a

utilização de bases purinas e ^{15}N , porém alertaram sobre a diferença no enriquecimento com ^{15}N e na relação purinas: N entre bactérias e protozoários. Entretanto, de um modo geral, estes métodos são laboriosos, requerem animais fistulados e a estimativa do fluxo abomasal. Atualmente, o conforto animal tem recebido destaque na comunidade mundial, havendo crescente interesse na substituição das implantações cirúrgicas de fístulas, em diferentes partes do trato gastrointestinal, por tecnologias não-invasivas para a condução de experimentos. Outras vantagens de técnicas não-invasivas são: a eliminação de possíveis efeitos não atribuídos ao tratamento, decorrentes do desconforto ou infecção pela presença das fístulas, e a possibilidade de utilizá-las a campo.

O uso dos derivados de purinas (DP) como indicador metabólico para estimar a síntese microbiana no rúmen foi primeiramente proposto por Blaxter & Martin em 1962, citados por Fujihara et al. (1987). Este método assume que o fluxo duodenal de ácido nucléico é essencialmente de origem microbiana e, após digestão intestinal das bases purinas (adenina e guanina) microbianas, elas são catabolizadas e excretadas proporcionalmente à quantidade absorvida.

A alantoína é o DP mais abundante, sendo o ácido úrico, xantina e hipoxantina os demais componentes denominados coletivamente como DP. Em bovinos, devido à alta atividade da enzima xantina oxidase, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico, a excreção de alantoína e ácido úrico constitui cerca de 98% dos derivados urinários de purinas, portanto a contribuição da xantina e hipoxantina são irrisórias para determinação da excreção total dos DP (Rennó et al., 2000). Em vacas lactantes, ocorre também a excreção de derivados de purinas no leite, constituídos em sua maior parte de alantoína, mas com alguma contribuição de ácido úrico, e se a excreção de DP no leite for desconsiderada, a absorção de purinas pode ser subestimada. A proporção DP absorvidos no intestino delgado: DP recuperados na urina pode ser modificada se a excreção de DP pela glândula mamária for alterada pela produção de leite (Gonzalez-Ronquillo et al., 2003).

Diversos autores (Chen et al., 1990; Balcells et al., 1991; Giesecke et al., 1994; Orellana Boero et al., 2001 e Gonzalez-Ronquillo et al., 2003)

confirmaram a relação entre o fluxo duodenal de bases purinas e a excreção urinária de DP. Assim, o fluxo de N microbiano pode ser calculado a partir da quantidade de purinas absorvidas, que são estimadas a partir da excreção dos DP (Chen & Gomes, 1992).

Segundo Mayes et al. (1995), alguns parâmetros usados no modelo não estão completamente definidos, entre eles a relação N purina: N total (NP/NT) nos microrganismos ruminais, a recuperação de purinas absorvidas e a excreção de derivados de purinas de origem endógena. Clark et al. (1992), Chen & Gomes (1992), Valadares Filho (1995), Carvalho et al. (1997), Dias et al. (2000), Rennó et al. (2000), Valadares et al. (1999), Leão et al. (2002) e Rennó et al. (2003) obtiveram relações NP/NT, na base seca, de 13,7; 11,6; 17,6; 15,3; 11,3; 11,7; 13,4; 24,0 e 19,5, respectivamente.

A incompleta recuperação das purinas absorvidas tem sido reportada, sendo a saliva e o leite as principais rotas não-renais para excreção de derivados de purinas. A recuperação das purinas absorvidas em novilhos foi de 0,70 a 0,77 e 0,85 (Beckers & Théwis, 1994 citados por Gonzalez-Ronquillo et al., 2003 e Chen & Gomes, 1992). Em vacas secas, Orellana Boero et al. (2001) relataram recuperação de 0,84, enquanto Vagnoni et al. (1997) encontraram recuperações de 0,83 a 0,86 e Gonzalez-Ronquillo et al. (2003) de 0,56 a 0,70 em vacas lactantes.

A existência de uma fração endógena nos DP excretados foi confirmada em diversos experimentos utilizando diferentes metodologias e mostrou-se variável. Valores, em $\text{mmol/kgPV}^{0,75}$, de 0,259 a 0,530 para vacas lactantes foram citados por Gonzalez-Ronquillo et al. (2003), que encontraram média de 0,512 em vacas em diferentes estágios de lactação. Orellana Boero et al. (2001) estimaram menores excreções endógenas em vacas secas ($0,236 \text{ mmol/kgPV}^{0,75}$) em relação aos citados para vacas em lactação. Em novilhos ou novilhas, Verbic et al. (1990), Fujihara et al. (1987) e Giesecke et al. (1993), citados por Orellana Boero et al. (2001), encontraram médias de 0,365; 0,455 e 0,489 $\text{mmol/kgPV}^{0,75}$, respectivamente. As diferenças entre as observações encontradas na literatura são atribuídas à utilização de diferentes técnicas e a possíveis variações no metabolismo dos ácidos nucléicos em animais em diferentes estádios fisiológicos (crescimento, lactação, gestação e manutenção).

Utilizando 116 observações em 24 bovinos não-castrados, fistulados no rúmen, abomaso e íleo, em cinco experimentos, Rennó et al. (2000) verificaram que a produção de proteína microbiana obtida pelos DP na urina ou pelas bases purinas no abomaso não diferiu, e concluíram que o método de excreção urinária de DP pode ser utilizado para estimar a produção de proteína microbiana.

O método baseado na excreção de DP requer coleta total de urina para quantificação da excreção diária dos derivados urinários de purina. O volume urinário tem sido obtido através de coletas com sondas por períodos de 24 a 120h, porém pesquisas têm sido realizadas para estimar o volume de excreção diária de urina e de DP a partir de uma única amostra coletada ao longo do dia (coleta de urina *spot*), possibilitando a utilização deste método em situações a campo e facilitando as coletas em experimentos (Valadares et al., 1999; Oliveira et al., 2001).

A creatinina é formada no músculo pela remoção de água da creatina-fosfato, originada do metabolismo do tecido muscular (Harper et al., 1982). A molécula de creatina-fosfato é degradada espontaneamente a taxas relativamente constantes formando a creatinina. A creatinina é um metabólito do qual o organismo já não necessita, não sendo utilizada para formação de novas moléculas, e portanto secretada em grandes quantidades pelos rins. A produção diária de creatina, e por conseguinte a excreção de creatinina, é dependente da massa muscular e portanto proporcional ao peso do animal (Koren, 2000). Assim, uma vez determinada a excreção diária de creatinina em função do peso do animal e considerando a concentração urinária desta constante ao longo do dia, pode-se estimar o volume urinário excretado diariamente a partir da concentração de creatinina em uma amostra de urina coletada de um animal de peso conhecido. A excreção de creatinina é pouco afetada pelo teor de proteína, carboidratos não fibrosos ou nitrogênio não protéico da dieta (Susmel et al., 1994; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997; Oliveira et al., 2001; Rennó et al., 2003), portanto não são esperadas variações devido à dieta. Dessa forma, se coletada uma única amostra diária de urina, denominada de amostra *spot*, e determinada a concentração de creatinina, o volume urinário e a excreção de outros compostos urinários

podem ser estimados, eliminando o desconforto causado por funis ou cateteres utilizados na coleta total e simplificando a obtenção de dados experimentais.

Entretanto, como a creatinina é sintetizada no tecido muscular e a proporção de tecidos em animais em desenvolvimento é variável, a excreção diária de creatinina, expressa em função do peso vivo do animal, pode ser diferente em animais de idade ou peso vivo distintos.

Oliveira et al. (2001) não observaram diferença significativa entre os volumes de urina e a excreção de DP obtidos em coleta total durante 24 horas e os estimados utilizando a concentração de creatinina na urina *spot*. Entretanto Rennó et al. (2000), trabalhando com novilhos de diferentes grupos genéticos, encontraram diferença no volume urinário entre a coleta total e a amostra *spot*, porém não verificaram diferença na excreção diária dos demais compostos urinários estudados. Segundo Valadares et al. (1999), a coleta de urina *spot* para quantificar o volume de urina e a produção de N microbiano, baseado na excreção de creatinina, apresentou-se semelhante à coleta de urina total.

Assim, esforços são necessários para validar a metodologia de coleta de urina *spot*, possibilitando a utilização deste método para avaliação do *status* protéico de rebanhos de forma simples e para avaliação mais completa de dados experimentais com animais sob pastejo, onde a coleta total seria extremamente trabalhosa. Para tanto, torna-se essencial o conhecimento da excreção de creatinina para animais em diferentes estádios fisiológicos (novilhas e novilhos de diferentes pesos) ou para vacas com diferentes potenciais de produção de leite (baixo, médio e alto).

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado à partir de quatro experimentos, objetivando:

- avaliar os efeitos dos níveis crescentes de casca de algodão em substituição parcial à silagem de capim-elefante sobre o consumo, digestibilidades aparente total, ruminal e intestinal, produção microbiana e excreção de uréia em novilhos de origem leiteira confinados.
- Determinar o efeito do potencial de produção de leite, do peso de novilhas, do tempo de duração da coleta total de urina em vacas e de

diferentes volumosos na dieta de novilhos sobre a excreção de creatinina;

- Determinar o efeito do potencial de produção de leite (baixo, médio e alto) e de diferentes pesos de novilhas sobre as concentrações de N-uréia no soro e no leite, a excreção urinária de uréia e a síntese de proteína microbiana;
- Comparar a excreção de derivados de purinas na urina obtida em coleta total com a estimada pela coleta *spot*, em vacas de diferentes produções e novilhas de vários pesos;
- Desenvolver equações de regressão para estimar a excreção urinária de compostos nitrogenados a partir das concentrações de NUS e NUL.

Os trabalhos a seguir foram elaborados segundo as normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL-PHILLIPS, D. M. Milk urea nitrogen: A nutritional evaluation tool. www.uky.edu/Agriculture/AnimalScience/dairy/extension/dairynutindex.html#diagnutprob (20/03/2003).
- BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; CASTRILLO, C.; GASA, J. Urinary excretion of allantoin and allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum. **Journal of Agricultural Science**, v.116, p.309-317, 1991.
- BRODERICK, G.A. Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow. USDA, Agricultural Research Service. US Dairy Forage Research Center, 1995. **Research Summaries**, 122p.
- BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.11, p.2964-2971, 1997.
- BRODERICK, G.A.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.9, p.2618–2632, 1992.
- BUTLER, W.R.; CHERNEY, D.J.R.; ELROD, C.C. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: CORNELL PROCEEDINGS CONFERENCE, 1., 1995. Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1995. p.89 – 95.
- CARVALHO, A.U.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO da SILVA, J.F. et al. Níveis de concentrado em dietas de zebuínos. 3. Eficiência microbiana e população de protozoários ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.1007-1015, 1997.
- CHEN, X.B.; DeB HOVELL, F.D.; ØRSKOV, F.R. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants: Effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. **British Journal of Nutrition**, v.63, n.1, p.131-142, 1990.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details (Occasional publication). INTERNATIONAL FEED RESOURCES UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p. 1992.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2304-2323, 1992.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, www.conab.gov.br, (20/01/2004).

- DIAS, H.L.C.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F. et al. Eficiência de síntese microbiana, pH e concentrações ruminais de amônia em novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.555-563, 2000.
- FERGUSON, J. D. Milk urea nitrogen. Center for Animal Health and Productivity, 2001, www.vet.upenn.edu/mun/mun-info.html, (20/03/2003).
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.8, p.2376-2381, 1994.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. et al. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- GUSTAFSSON, A. H.; PALMQUIST, D. L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea and milk urea in dairy cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.2, p.475-484, 1993.
- HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de Química Fisiológica**. 5° ed. São Paulo: Atheneu. 1982. 736p.
- HUTJENS, M.F. MUN as a management tool. 1996. www.aces.uiuc.edu/~nsystem/dairyrep96/Hutjens. (20/03/2003).
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to national research council recommendations. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1261-1273, 1999.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.81, n.10, p.2681-2692, 1998.
- KAUFFMAN, A.J., ST-PIERRE, N.R. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.10, p.2284-2294, 2001.
- KOHN, R.A.; KALSCHEUR, K.F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.1, p.227-233, 2002.

- KOREN, A. Creatinine – urine. Medical encyclopedia. 2000. www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003610.htm. (18/11/2003).
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Técnica de coleta de digesta omasal para estudos de digestão parcial em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife, PE. **Anais...**CD-ROM. Nutrição de ruminantes.
- MAYES, R.W.; DOVE, H.; CHEN, X.B. et al. Advances in the use of faecal and urinary markers for measuring diet composition, herbage intake and nutrient utilization in herbivores. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE NUTRITION OF HERBIVORES, 4., 1995, Paris. **Proceedings...** Paris: INRA, 1995, p.381-406.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY Jr., G.C., (Ed.) **Forage quality, evaluation and utilization**. In: NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY, EVALUATION AND UTILIZATION. American Society of Agronomy. 1994. p.450-493.
- MOORE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium Continuing Education Veterinary**, v.18, n.6, p.712-721, 1996.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.:National Academy, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7. ed.National Academic Press. Washinton, D.C.: 2001. 381p.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivates in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- PINEDA, N.R., ROCHA, J.C.M. Estratégias de marketing e alianças mercadológicas na cadeia produtiva da carne bovina. In: SIMCORTE – SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p.1-22.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE

ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...**Santa Maria, 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.

RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Estimativas da excreção urinária de derivados de purinas e da produção de proteína microbiana em novilhos alimentados com níveis crescentes de uréia na ração. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife, 2002, CD Rom. Nutrição de Ruminantes.

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

RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.J., et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.

SANNES, R.A.; MESSMAN, M.A.; VAGNONI, D.B. Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.4, p.900-908, 2002.

SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-265, 1994.

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

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

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

VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: UFV/DZO, 1995. p.1259-1263.

VALADARES FILHO, S.C., CABRAL, L.S. Aplicação dos princípios de nutrição de ruminantes em regiões tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife, PE. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.

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

VILELA, D. Perspectivas para a produção de leite no Brasil. In: Sinleite - Avanços em produção e manejo de bovinos leiteiros, 3., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002. p.225-248.

WESTWOOD, C. T.; LEAN, I. J.; KELLAWAY, R.C. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: A quantitative review. Part 2. Effects of dietary protein on reproductive performance. **New Zealand Veterinary Journal**, v.46, n.1, p.123-130, 1998.

Avaliação Nutricional da Casca de Algodão para Novilhos de Origem

Leiteira

Resumo – Objetivou-se avaliar o efeito dos níveis de casca de algodão na dieta de novilhos sobre os consumos e digestibilidades totais e parciais da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos (CNF), o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT), a produção de proteína microbiana, as concentrações de nitrogênio uréico no soro (NUS) e de amônia no rúmen e a excreção de compostos nitrogenados na urina. Utilizaram-se quatro animais de grau de sangue predominantemente Holandês, fistulados no rúmen, com peso médio de 259 kg, distribuídos em um quadrado latino 4X4, sendo quatro animais, quatro períodos experimentais e quatro tratamentos (0, 10, 20 e 30% de casca de algodão peletizada, na base da matéria seca, em substituição à silagem de capim-elefante), sendo a dieta total constituída de 60% de volumoso. Verificou-se que os níveis de casca de algodão aumentaram linearmente o consumo diário de todos os nutrientes, tanto em kg quanto em % do peso vivo. Não houve efeito dos diferentes tratamentos sobre o pH e as concentrações de amônia ruminais, as digestibilidades totais e parciais dos nutrientes e conseqüentemente, não houve efeito sobre o teor NDT das dietas que foi em

média 59,53%. O NDT calculado da casca de algodão foi de 55,52%. A concentração de NUS e a excreção de uréia (em mg/kgPV) diminuíram enquanto a excreção de derivados de purinas (DP) na urina aumentou linearmente com a inclusão de casca de algodão nas dietas. A casca de algodão mostrou-se um bom volumoso alternativo, podendo ser fornecida até o nível de 30% da MS total na dieta de novilhos de origem leiteira.

Palavras- chave: degradabilidade, derivados de purinas, digestibilidade parcial, nitrogênio uréico no soro, subproduto, volumoso alternativo.

Nutritional Evaluation of Cottonseed Hulls to Dairy Steers

Abstract – It was aimed to evaluate the effect of cottonseed hulls levels in the diet of steers on the intakes and total and partial digestibilities of the dry matter (DM), organic matter (OM), ether extract (EE), crude protein (CP), neutral detergent fiber corrected to ashes and protein (NDFap) and non-fiber carbohydrates (NFC), on the intake of total digestible nutrients (TDN), on the microbial protein synthesis, on the serum urea nitrogen (SUN) and ruminal ammonia concentration and on the urinary nitrogenous compounds excretion. Four predominantly Holstein steers, fitted with rumen cannulae, with average live weight of 259 kg were used. The design was in 4x4 square lattice, with four animals, four periods and four treatments (0, 10, 20 and 30% of cottonseed hulls, in dry matter basis, in substitution of elephantgrass silage), being the total diet constituted of 60% roughage. It was verified that the cottonseed hulls levels increased linearly the daily intake of all nutrients, in kg and in % of the live weight. There wasn't effect of the treatments on ruminal pH and ruminal ammonia concentrations, on total and partials digestibilities of the nutrients and consequently there wasn't effect on TDN content of the diets, which was, in average, 59,53%. The calculated TDN content of the cottonseed hulls was 55,52%. The SUN concentration and urinary urea excretion (in mg/kgLW) decreased while the urinary purine derivatives (PD) excretion increased linearly with the cottonseed hulls inclusion on the diets. The cottonseed hulls was a

good alternative roughage, and could supply until 30%(DM) of the dairy steer's diet.

Key-words: alternative roughage, byproduct, degradability, partial digestibility, serum urea nitrogen, purine derivatives.

Introdução

O baixo rendimento zootécnico da pecuária de corte, em muitos sistemas de exploração, tem sido expressivamente alterado pela intensificação da produção e utilização do confinamento como estratégia gerencial e alimentar. A alimentação de bovinos confinados representa a maior parte dos custos operacionais, sendo os alimentos volumosos o ingrediente, individualmente, de menor custo na dieta, o que torna atraente a maximização da sua utilização, respeitando a relação entre a diminuição no custo:redução no desempenho, de forma a otimizar a margem de lucro (Valadares Filho et al., 2002a). A escolha do volumoso deve considerar seu preço, disponibilidade no mercado, facilidade operacional bem como infra-estrutura necessária à sua utilização.

A casca de algodão compreende a camada externa do caroço de algodão com algum línter aderido, separado durante o beneficiamento visando à produção de óleo. Este subproduto apresenta alto teor de fibra e lignina o que torna pouco atraente sua utilização na alimentação de monogástricos e interessante como alimento volumoso alternativo para ruminantes.

Alimentos ricos em fibra e pouco digestíveis, geralmente deprimem o consumo de MS em consequência da quantidade de material indigestível, que ocupa espaço dentro do rúmen, causando distensão física do epitélio ruminal (Church, 1993). Apesar do elevado teor de FDN e FDA da casca de algodão, este subproduto tem uma característica peculiar de não afetar o consumo. Ao contrário, diversos autores relataram aumento linear do consumo por bovinos de corte (Moore et al., 1990, Bartle et al., 1994; Magalhães et al., 2003) e de leite (Harris, et al., 1983, Van Horn et al., 1984, Morales et al., 1989, Adams et al., 1995, Gu et al., 1996, Gu & Moss, 1996, citados por Hall & Akinyode, 2000) alimentados com este subproduto.

Além do conhecimento da composição bromatológica e da ingestão de alimentos, é importante o conhecimento da utilização dos nutrientes pelo animal, o qual é obtido por meio de estudos de digestão e de degradabilidade ruminal. O conhecimento dos locais de digestão dos nutrientes é importante,

pois permite calcular as quantidades aparentemente absorvidas dos mesmos nos diferentes segmentos do trato digestivo. A literatura internacional reporta que a casca de caroço de algodão diminui a digestibilidade da dieta (Moore et al., 1990; Bartle et al., 1994 e Akinyode et al., 1999). A digestibilidade da casca de algodão é provavelmente afetada pela sua forma física como também pelo teor de nutrientes (Hall & Akinyode, 2000).

As exigências dietéticas de proteína metabolizável para ruminantes são atendidas mediante a absorção no intestino delgado da proteína microbiana e proteína dietética não-degradada no rúmen digestíveis, sendo que a proteína microbiana pode suprir de 50 a 100% da proteína metabolizável exigida para bovinos de corte (NRC, 1996). A proteína sintetizada pelos microrganismos no rúmen possui excelente perfil de aminoácidos e composição pouco variável (NRC, 2001), o que denota a importância do estudo dos mecanismos de síntese protéica microbiana e dos fatores a eles relacionados, visando sua maximização.

O pH e as disponibilidades ruminais de nitrogênio e energia são fatores determinantes sobre o crescimento microbiano (Clark et al., 1992). A concentração de amônia no rúmen é uma função das suas taxas relativas de entrada e remoção (Nolan, 1993), sendo verificada alta correlação entre a concentração de amônia ruminal e a concentração de uréia sérica, sendo a última proporcional à excreção urinária de compostos nitrogenados e, portanto, utilizada como indicador do *status* protéico em comparações de dietas.

A eficiência da extração da pluma e da retirada da casca de algodão não é constante, logo a casca de algodão poderá conter diferentes proporções de línter e polpa, implicando em composição bromatológica variável. A variabilidade na composição resulta em diferentes respostas de desempenho animal. A literatura nacional é carente de informações a respeito do emprego da casca de algodão produzida no país e, portanto, não há recomendação do nível de utilização deste alimento.

O presente trabalho foi realizado objetivando-se avaliar, em novilhos de origem leiteira, o efeito da inclusão da casca de algodão na dieta em substituição parcial à silagem de capim-elefante sobre os consumos e digestibilidades totais, ruminais e intestinais dos nutrientes, o pH e as

concentrações de amônia no rúmen e a excreção de uréia na urina. Também foram avaliadas a cinética de degradação ruminal dos alimentos utilizados e a estimativa da produção de proteína microbiana obtida através dos derivados de purinas urinários ou das bases purinas no omaso.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, sendo a fase de campo realizada entre julho e setembro de 2002. A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas de posição 20°45'20" de latitude sul e 45°52'40" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 657m. A temperatura média e a precipitação pluviométrica observadas nos anos de 2000 e 2001 foram de, respectivamente, 20°C e 1217,9 mm e 20,7°C e 1148 mm (Universidade Federal de Viçosa, 2002).

Foram utilizados quatro novilhos não-castrados, com grau de sangue predominantemente Holandês, fistulados no rúmen, segundo as técnicas descritas por Leão & Coelho da Silva (1980). Os animais foram pesados no início e no final de cada período experimental. O peso médio dos novilhos durante o experimento foi de 259 kg. Os animais foram mantidos em regime de confinamento, alojados em baias individuais cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, de 3 x 3 m de área, e dotadas de comedouros e bebedouros individuais.

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4X4, sendo quatro animais, quatro períodos experimentais e quatro tratamentos.

A alimentação foi fornecida uma vez ao dia, na forma de ração completa, à vontade, permitindo sobras de no máximo cinco por cento, sempre às 7:00 horas. Os quatro tratamentos constituíram-se de dietas com níveis crescentes de casca de algodão peletizada (0, 10, 20 e 30%), em substituição (na base da matéria seca) à silagem de capim-elefante como volumoso, sendo a dieta total

constituída de 60% de volumoso, na base seca. As dietas foram balanceadas de acordo com o NRC (1996), para conterem em torno de 13% de PB.

As proporções dos ingredientes nos concentrados estão apresentadas na Tabela 1, a proporção dos ingredientes nas dietas experimentais na Tabela 2, a composição química-bromatológica dos ingredientes na Tabela 3 e a composição média das dietas experimentais na Tabela 4.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes nos concentrados, na base da matéria natural

Ingredientes (%)	Níveis de Casca de Algodão (%)			
	0	10	20	30
Grão de sorgo moído	81,97	82,34	82,59	82,84
Farelo de soja	11,35	11,34	11,34	11,34
Uréia	4,33	3,99	3,77	3,55
Sulfato de amônia	0,42	0,40	0,38	0,35
Sal	0,55	0,55	0,55	0,55
Fosfato bicálcico	0,22	0,22	0,22	0,22
Calcário	1,12	1,12	1,11	1,11
Premix mineral ¹	0,04	0,04	0,04	0,04

¹ – Composição: sulfato de cobalto, 1,82%, sulfato de cobre, 22,69%, iodato de potássio, 0,45%, selenito de sódio, 0,09%, sulfato de zinco, 74,95%.

Tabela 2 – Proporção dos ingredientes nas dietas experimentais, na base da matéria seca, para as dietas experimentais

Ingredientes (%)	Níveis de Casca de Algodão (%)			
	0	10	20	30
Silagem de capim-elefante	60,00	50,00	40,00	30,00
Casca de algodão	-	10,00	20,00	30,00
Grão de sorgo moído	32,49	32,65	32,76	32,87
Farelo de soja	4,50	4,50	4,50	4,50
Uréia	1,95	1,80	1,70	1,60
Sulfato de amônia	0,19	0,18	0,17	0,16
Sal	0,25	0,25	0,25	0,25
Fosfato bicálcico	0,10	0,10	0,10	0,10
Calcário	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix mineral ¹	0,02	0,02	0,02	0,02

¹ – Composição: sulfato de cobalto, 1,82%, sulfato de cobre, 22,69%, iodato de potássio, 0,45%, selenito de sódio, 0,09%, sulfato de zinco, 74,95%.

Tabela 3 – Composição químico-bromatológica dos ingredientes utilizados nas rações experimentais

Itens	Ingredientes			
	Silagem de capim-elefante	Casca de algodão	Grão de sorgo	Farelo de soja
MS (%)	25,64	87,40	88,72	90,64
MO ¹	90,98	97,16	98,29	93,13
PB ¹	4,32	8,08	9,88	45,10
NIDN ²	29,82	19,99	26,79 ³	5,75 ³
NIDA ²	21,60	9,73	23,66 ³	2,77 ³
EE ¹	1,65	2,93	4,05	2,29
FDNcp ¹	74,07	74,78	8,68	13,76
FDN ¹	77,68	78,99	9,94	15,08
CNFcp ¹	10,94	11,37	75,68	31,98
CNF ¹	14,55	15,58	76,94	33,30
FDA ¹	52,01	61,70	5,95	13,27
Lignina ¹	10,53	11,54	1,81	2,52
FDai ¹	29,78	30,98	1,05	0,66
NDT	-	55,52	-	-

¹ - % na MS; ² - % do N total; ³ Valadares Filho et al. (2002b).

Tabela 4 – Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp) e lignina, das dietas experimentais, com base na matéria seca

Itens	Níveis de Casca de Algodão (%)			
	0	10	20	30
MS (%)	49,65	55,72	61,89	68,26
MO	93,04	93,82	94,37	94,99
PB	13,27	13,24	13,35	13,46
EE	2,41	2,55	2,68	2,81
FDNcp	47,88	47,97	48,05	48,13
CNFcp	29,48	30,06	30,29	30,59
Lignina	7,02	7,12	7,23	7,33

Diariamente foram registradas as quantidades de alimentos fornecidos e das sobras de cada animal para estimativa do consumo. No momento da alimentação, durante o período experimental, foram realizadas amostragens dos alimentos e das sobras que foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para análises posteriores. Os períodos experimentais tiveram duração de 13 dias, sendo seis dias de adaptação às dietas e sete dias para as coletas de fezes e digestas de omaso, para a coleta de líquido ruminal visando à determinação do pH e das concentrações de N-NH₃, para a coleta de digesta ruminal para isolamento de bactérias, para coleta total de urina e para a coleta de sangue.

As coletas de fezes e digestas de omaso foram realizadas com intervalos de 52 horas entre as coletas, iniciando-se às oito horas do dia um e terminando às 16 horas do dia cinco do período de coleta. A coleta de digesta omasal foi realizada por sucção do conteúdo omasal, segundo técnica descrita por Leão et al. (2002). As amostras de fezes e de digesta omasal foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, a 60°C por 72 horas, moídas em moinho de facas com peneira contendo crivos de um mm, sendo então elaborada uma amostra composta por animal por período, com base no peso seco de cada subamostra.

Quatro horas após o fornecimento da ração, no dia quatro de cada período experimental, realizou-se a coleta de sangue via punção da veia jugular, utilizando-se tubo de ensaio contendo gel separador e acelerador de coagulação, sendo as amostras imediatamente centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos para separação do soro, que foi em seguida armazenado a -15°C .

No dia seis dos períodos experimentais foram realizadas coletas totais de urina durante 24 horas, utilizando-se funis coletores acoplados aos animais dotados de mangueiras de polietileno que conduziram a urina até galões plásticos contendo 500 mL de solução de ácido sulfúrico a 20% para evitar perda de nitrogênio. Após a coleta, foi determinado o peso total excretado, sendo considerada a densidade da urina coletada de um quilo por litro. Posteriormente, o conteúdo do galão foi homogeneizado e então coletaram-se amostras de 10 mL que foram diluídas com 40 mL de ácido sulfúrico 0,036N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purina urinários e precipitação do ácido úrico. Uma outra amostra de urina foi coletada sem proceder à diluição para determinação da uréia e creatinina. Devidamente identificadas, as amostras foram armazenadas a -15°C para posteriores análises laboratoriais.

No dia sete do período foi realizada a coleta de digesta ruminal, anteriormente à alimentação, para isolamento de bactérias conforme técnica sugerida por Cecava et al. (1990). No mesmo dia, realizou-se a coleta das amostras de líquido ruminal, imediatamente antes e quatro horas após a alimentação, procedendo-se filtração em gaze para determinação do pH. Posteriormente amostras de 50 mL foram acondicionadas em recipientes plásticos, contendo um mL de solução de ácido sulfúrico 50%, e armazenadas em congelador para posterior determinação do N-NH_3 .

Foi realizado um ensaio de degradabilidade durante o período de adaptação do último período experimental. Utilizaram-se sacos de náilon medindo 10x20 cm, com porosidade de 50 micras, onde se adicionaram 5g de amostras de casca de algodão peletizada, silagem de capim-elefante, sorgo e farelo de soja secos em estufa a 65°C e moídos utilizando peneira com crivos de dois mm. Os tempos de incubação utilizados foram de zero, três, seis, 12, 24, 48, 72, 96 e 144 horas. As amostras foram incubadas em dois animais dos

tratamentos com 10 e 20% de casca de algodão na dieta, por intermédio da fístula ruminal, fixados a uma corrente de aço com peso na extremidade, permitindo a imersão das amostras no conteúdo ruminal. Decorrido o tempo de incubação, os sacos foram lavados em água e levados à estufa a 65°C por 72 horas sendo posteriormente determinadas a MS, PB e FDN dos resíduos da incubação, conforme Silva & Queiroz (2002). A degradabilidade da MS e PB foi calculada utilizando o modelo de crescimento assintótico de primeira ordem reparametrizado por Orskov & McDonald (1979) descrito pela função: $Y = a + b \cdot (1 - e^{(-K_d \cdot t)})$. Em que “Y” é o desaparecimento de cada fração; “a” é a fração solúvel; “b” é a fração insolúvel, mas potencialmente degradável; “K_d” é a taxa de degradação de “b” e “t” é a variável independente tempo. A degradação efetiva da PB e da MS foi calculada pelo modelo: $DE = a + b \cdot K_d / (K_d + k_p)$, em que “k_p” é a taxa de passagem do alimento pelo rúmen.

Para a degradabilidade da FDN, utilizou-se o modelo exponencial decrescente proposto por Mertens & Loften (1980) dado por: $Y = b + i$, para $0 < t < L$ e $Y = b \cdot e^{(-K_d \cdot (t-L))} + i$, para $t > L$. Em que “Y” é o resíduo de incubação, “i” é a fração indigestível e “L” o período de latência.

Nas amostras de alimentos, sobras, fezes e de conteúdo omasal determinaram-se os teores MS, MO, nitrogênio total e EE e nas amostras de alimentos os teores de fibra em detergente ácido (FDA), conforme Silva & Queiroz (2002). A FDN foi determinada pela técnica da autoclave, segundo Rennó et al. (2002), sendo quantificados os teores de PB e cinzas da FDN conforme Silva & Queiroz (2002), para determinação da FDN corrigida (FDN_{cp}). Nas amostras de alimentos foram quantificados os teores de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN).

A fibra em detergente ácido indigestível (FDA_i) foi utilizada como indicador interno, sendo determinada nas amostras de alimentos, fezes, digesta omasal e sobras através da incubação ruminal por 144h de 0,5g de amostra em sacos Ankom (*filter bags* F57) que posteriormente foram lavados em água, fervidos em detergente ácido por uma hora, lavados em água destilada e em acetona e secos em estufa a 65°C por 72 horas, conforme proposto por Cochran et al. (1986).

Devido à presença de uréia, os CNF dos concentrados foram calculados como proposto por Hall (2000): $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ derivada da uréia} + \% \text{ de uréia}) + \%FDN_{cp} + \%EE + \%cinzas]$.

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados por: $NDT = \%PB_{digestível} + \%FDN_{digestível} + \%CNF_{digestível} + (2,25 * \%EE_{digestível})$. O NDT da casca de algodão foi estimado por intermédio de sistema de equações envolvendo os tratamentos com 20 e 30% de casca.

Nas amostras de urina diluída foram realizadas as análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção de derivados de purinas (DP) na urina em 24 horas foi calculada multiplicando-se o volume urinário em 24 horas pela concentração dos DP na amostra de urina da coleta total.

A determinação da uréia na urina, e no soro foi realizada segundo o método diacetil modificado (kits comerciais).

As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$DP = 0,85 * Pabs + 0,385 * PV^{0,75}$$

em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 * PV^{0,75}$, a contribuição endógena na excreção urinária de purinas (Verbic et al., 1990).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (Nmic, g N/dia) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação:

$$Nmic = (70 * Pabs) / (0,83 * 0,116 * 1000),$$

em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol), 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 a relação N purina: N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992).

Para quantificação de microrganismos na digesta omasal, foram utilizadas as bases purinas, cuja determinação seguiu a técnica descrita por Ushida et al. (1985). O fluxo de N microbiano na digesta omasal foi calculado utilizando-se a relação N purina:N total, obtida no experimento. O método das

bases purinas no omaso foi comparado ao dos derivados de purina na urina para quantificação da produção microbiana no rúmen.

No soro e na urina foram determinadas as concentrações de uréia, segundo o método diacetil modificado (kits comerciais).

A concentração de N uréia no soro (NUS) foi obtida por meio do produto da concentração da uréia, multiplicada por 0,466 correspondente ao teor de N na uréia.

As concentrações de N-NH₃ nas amostras do líquido ruminal foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio 2N, conforme técnica de Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

Os dados foram avaliados por meio de análises de variância e regressão. A determinação da produção de proteína microbiana obtida pelo método das bases purinas omasais foi comparada pelo teste t a 5% de probabilidade com o método dos derivados urinários de purinas. Todas análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UFV, 1998).

Resultados e Discussão

Estão apresentados na Tabela 5 os consumos médios dos nutrientes, em kg/dia e em porcentagem do peso vivo, e as respectivas equações de regressão, coeficientes de variação e determinação, para os diferentes tratamentos. Verificou-se que a inclusão de casca de algodão na dieta aumentou linearmente o consumo diário de praticamente todos os nutrientes, tanto em kg quanto em % do peso vivo. O consumo de matéria seca é de fundamental importância nutricional pois determina o nível de ingestão de nutrientes pelo animal e estabelece a quantidade de nutrientes disponíveis para manutenção e produção, sendo o principal determinante do desempenho animal. Alimentos volumosos reconhecidamente de baixa digestibilidade podem deprimir o consumo de MS, pois devido a sua baixa taxa de degradação e lento desaparecimento do rúmen e passagem pelo trato gastrointestinal podem causar

o enchimento ruminal. Segundo Allen (1996), o epitélio do retículo-rúmen possui receptores de tensão e táteis que afetam negativamente o consumo quando estimulados, como no caso da distensão ruminal em decorrência do acúmulo de digesta.

Tabela 5 – Médias, equações de regressão (REG), coeficientes de variação (CV) e determinação (r^2), obtidas para os consumos de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida (FDNcp), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), nutrientes digestíveis totais (NDT), MO degradada no rúmen (MOdr) e carboidratos degradados no rúmen (CHOdr), em função dos níveis de casca de algodão nas rações

Itens	Níveis de Casca de Algodão (%)				REG	CV (%)	r ²
	0	10	20	30			
Consumos (kg/dia)							
MS	6,63	7,44	7,62	8,26	$\hat{Y}=0,0498*CA + 6,7472$	11,04	0,21
MO	6,19	7,00	7,21	7,87	$\hat{Y}=0,0516*CA + 6,3012$	10,95	0,25
PB	0,98	1,03	1,11	1,20	$\hat{Y}=0,0076*CA + 0,9666$	10,74	0,23
EE	0,17	0,20	0,22	0,24	$\hat{Y}=0,0022*CA + 0,1768$	10,26	0,41
FDNcp	2,87	3,33	3,43	3,76	$\hat{Y}=0,0271*CA + 2,946$	11,90	0,27
CNFcp	2,27	2,69	2,74	2,97	$\hat{Y}=0,0212*CA + 2,3477$	16,54	0,27
NDT	3,62	4,38	4,56	4,88	$\hat{Y}=0,0395*CA + 3,7729$	17,30	0,30
MOdr	2,27	2,74	3,12	3,67	$\hat{Y}=0,0457*CA + 2,2651$	26,93	0,35
CHOdr	1,80	2,25	2,63	3,03	$\hat{Y}=0,0395*CA + 3,4956$	24,68	0,44
Consumos (%PV)							
MS	2,46	2,89	2,97	3,14	$\hat{Y}=0,020439*CA + 2,566$	8,59	0,43
FDN	1,06	1,30	1,34	1,43	$\hat{Y}=0,010974*CA + 1,1216$	9,00	0,41

Embora, geralmente, o teor de FDN esteja correlacionado negativamente com o consumo de MS, diversos autores relataram aumento no consumo de dietas contendo casca de algodão (Moore et al., 1990; Bartle et al., 1994; Gu & Moss, 1996; Hall & Akinyode, 2000), indicando que a casca de algodão não tem o mesmo efeito depressivo no consumo que outros volumosos. Morales et al. (1989) encontraram decréscimo no consumo de MS em porcentagem do peso vivo com o aumento do teor de FDN da ração pela

adição de pré-secado de alfafa à dieta, entretanto verificaram aumento no consumo de matéria seca ao elevar o teor de FDN, ao mesmo nível do pré-secado, utilizando a casca de algodão. De acordo com o NRC (2001), a estimativa do consumo de matéria seca a partir do teor de FDN dietético não é muito acurada, existindo influência do tamanho da partícula, digestibilidade e taxa de passagem da fonte de FDN que determinam variações no consumo.

Moore et al. (1990), substituindo metade do feno de alfafa por casca de algodão ou palhada de trigo para novilhos alimentados com dietas contendo 35% de volumoso, relataram aumento no consumo pelos animais recebendo casca de algodão em relação aos que consumiam somente feno de alfafa como volumoso (6,9 contra 5,9 kg/dia). Durante o esvaziamento ruminal, observou-se que a digesta ruminal dos animais que consumiram casca de algodão apresentava-se bem homogênea e menos estratificada que a digesta daqueles animais dos demais tratamentos. Segundo os autores, isto deve ter influenciado o aumento da taxa de passagem do conteúdo ruminal, e, como o consumo e a taxa de passagem são positivamente relacionados, a passagem mais rápida permitiu aos animais aumentarem o consumo de matéria seca. O tamanho da partícula também influencia a taxa de escape ruminal, e notadamente as partículas de casca de algodão eram inferiores às partículas da silagem.

Estudando os mesmos níveis de substituição de silagem de capim-elefante por casca de algodão em dietas contendo 60% de volumoso, Magalhães et al. (2003) observaram aumentos lineares ($P < 0,05$) nos consumos de MS e FDN, expressos em relação ao peso vivo. Entretanto não observaram diferenças significativas para os consumos de PB, CNF e NDT. Avaliando diferentes volumosos para bovinos em terminação, Defoor et al. (2002) encontraram maiores consumos ($P < 0,10$) de energia líquida para ganho, em relação ao peso metabólico, dos animais consumindo casca de algodão em relação àqueles que consumiram feno de alfafa. De acordo com Hall & Akinyode (2000), os dados encontrados na literatura sugerem que o uso de casca de algodão na dieta, tem proporcionado consumos superiores sem, no entanto, aumentar a produtividade animal.

Na Tabela 6 são apresentadas as médias, equações de regressão e coeficientes de variação obtidas para os coeficientes de digestibilidade aparente total dos nutrientes, bem como os teores de nutrientes digestíveis totais, para os diferentes níveis de casca de algodão nas rações. Observa-se que não houve influência dos níveis de casca de algodão sobre as digestibilidades e conseqüentemente, não houve efeito sobre o NDT das dietas que foi em média 59,53%.

Tabela 6 – Médias, equações de regressão (REG) e coeficientes de variação (CV) obtidas para os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos calculados com FDNcp (CNFcp) e teores de nutrientes digestíveis totais (NDT), em função dos níveis de casca de algodão nas rações

Itens	Níveis de Casca de Algodão (%)				REG	CV (%)
	0	10	20	30		
MS	54,87	53,99	55,56	54,84	$\hat{y}=54,82$	6,08
MO	56,22	55,48	56,45	55,66	$\hat{y}=55,96$	5,61
PB	66,07	59,26	64,50	62,49	$\hat{y}=63,08$	7,55
EE	85,74	85,60	86,36	84,67	$\hat{y}=85,60$	3,34
FDNcp	32,60	33,17	36,26	34,87	$\hat{y}=34,23$	11,99
CNFcp	82,96	84,13	80,82	81,31	$\hat{y}=82,31$	4,03
NDT (%MS)	59,80	58,72	60,08	59,51	$\hat{y}=59,53$	5,44

Moore et al. (1990) reportaram decréscimo na digestibilidade da MS, quando a casca de algodão substituiu o feno de alfafa ou a palhada de trigo, mas o teor de FDN da dieta contendo casca (30,3%) foi superior ao das dietas com feno de alfafa ou palhada de trigo (22,9 e 24,2%, respectivamente). Vale ressaltar que no presente experimento o teor de FDN das dietas foi similar (Tabela 4), não sendo encontrada diferença na digestibilidade da MS. Akinyode et al. (1999), substituindo 40% da silagem de sorgo por casca de algodão também relataram decréscimo na digestibilidade da MS e MO e aparente aumento na taxa de passagem ruminal.

O teor de NDT da casca de algodão estimado foi de 55,52%, sendo superior ao valor de 44% encontrado por Hale et al. (1969) e de 47,9% estimado utilizando as equações propostas pelo NRC (2001).

Na Tabela 7 são apresentadas as médias, equações de regressão e coeficientes de variação obtidas para os coeficientes de digestibilidades aparente ruminal e intestinal dos nutrientes, para os diferentes níveis de casca de algodão nas rações. As digestões ruminais e intestinais de todos nutrientes avaliados não diferiram estatisticamente. A digestão de MS, MO, FDNcp e CNFcp ocorreu em maior extensão no rúmen. A digestibilidade da MS ruminal apresentou média de 61,01%, porém verificou-se diferença numérica de 34% entre os tratamentos sem casca e com 30% de casca de algodão. Estudando os locais de digestão, Valadares Filho (1985) encontrou que aproximadamente 58% da fração digestível da matéria seca é degradada no rúmen. Kropp et al. (1977) reportaram digestibilidade ruminal da MO média de 62% em dietas contendo em torno de 75% de casca de algodão. A digestibilidade ruminal da PB, expressa em % da proteína ingerida, apresentou média de 32,73%, indicando absorção de NH_3 pelo epitélio ruminal e perda de proteína dietética. A digestibilidade ruminal do EE apresentou valor negativo, indicando síntese de lipídeos microbianos.

Tabela 7 – Médias, equações de regressão (REG) e coeficientes de variação (CV) obtidas para os coeficientes de digestibilidade ruminal e intestinal da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos calculados com FDNcp (CNFcp), em função dos níveis de casca de algodão nas rações

Itens	Níveis de Casca de Algodão (%)				REG	CV (%)
	0	10	20	30		
Digestibilidade ruminal						
MS ¹	54,44	54,23	62,49	72,88	Ŷ=61,01	28,74
MO ¹	71,34	68,86	76,93	84,19	Ŷ=75,33	18,85
PB ²	37,20	29,21	28,63	35,89	Ŷ=32,73	46,05
EE ²	-12,71	-0,66	7,04	-7,75	Ŷ= -3,52	373,51
FDNcp ¹	86,33	83,02	94,33	92,52	Ŷ=89,05	21,45
CNFcp ¹	72,11	68,89	77,94	88,90	Ŷ=76,96	27,56
Digestibilidade intestinal						
MS ¹	45,56	45,76	37,51	27,12	Ŷ=38,99	44,96
MO ¹	28,66	31,14	23,07	15,81	Ŷ=24,67	231,66
PB ²	28,87	31,39	35,27	25,99	Ŷ=30,38	30,24
EE ²	89,36	79,05	75,99	91,94	Ŷ=84,08	6,70
FDNcp ¹	13,67	16,98	5,67	7,48	Ŷ=10,95	156,11
CNFcp ¹	27,89	31,11	22,06	11,10	Ŷ=23,04	515,31

¹ – expresso em % do total digerido

² – expresso em % da quantidade que chegou a cada local

As digestões intestinais dos nutrientes também não foram afetadas pela inclusão da casca de algodão na dieta. Apenas a digestão lipídica ocorreu em maior extensão nos intestinos, visto que no ambiente ruminal não há presença significativa de microrganismos capazes de utilizar este nutriente como fonte de energia.

Na Tabela 8 encontram-se as estimativas da fração solúvel (a), da fração potencialmente degradável (b) e da taxa de degradação da fração b (Kd) das equações ajustadas para a degradabilidade da MS e PB e a estimativa da fração potencialmente degradável (b), da fração indigestível (I), do tempo de latência ou *lag time* (L) e a taxa de degradação da fração b das equações ajustadas para a degradabilidade da FDN. Alguns resultados encontrados aproximam-se daqueles relatados em Valadares Filho et al. (2002b) que reportaram médias das frações a e b e do Kd da MS de 32,03; 65,67 e 5%

para o sorgo e 29,02, 67,49 e 8,95% para o farelo de soja, respectivamente. Nesta mesma publicação, as médias das frações a e b e do Kd da PB foram de 29,13; 60,8 e 5% para o sorgo e 18,21; 78,59 e 9,9% para o farelo de soja. Na Figura 1 estão apresentados os gráficos de degradabilidade da MS, da PB e da FDN.

Tabela 8 – Estimativa dos coeficientes a (%), b (%), Kd (%/hora) das equações ajustadas para a degradabilidade da MS e PB, estimativa dos coeficientes b (%), Kd (%/hora), i (%) e L (horas) das equações ajustadas para a degradabilidade da FDN e respectivos coeficientes de determinação (R^2) dos alimentos utilizados

Alimentos	Coeficientes			R ²
Degradabilidade da MS				
	a	b	Kd	
Casca de algodão	25,00	62,28	1,42	0,98
Silagem capim-elefante	29,32	37,14	2,36	0,99
Sorgo	30,00	67,34	6,79	0,98
Farelo de soja	30,00	67,01	12,37	0,94
Degradabilidade da PB				
	a	b	Kd	
Sorgo	18,94	80,00	2,61	0,97
Farelo de soja	19,71	80,00	6,43	0,96
Degradabilidade da FDN				
	b	Kd	i	L
Casca de algodão	68,46	1,46	14,55	7,26
Silagem capim-elefante	43,65	2,43	43,44	4,36

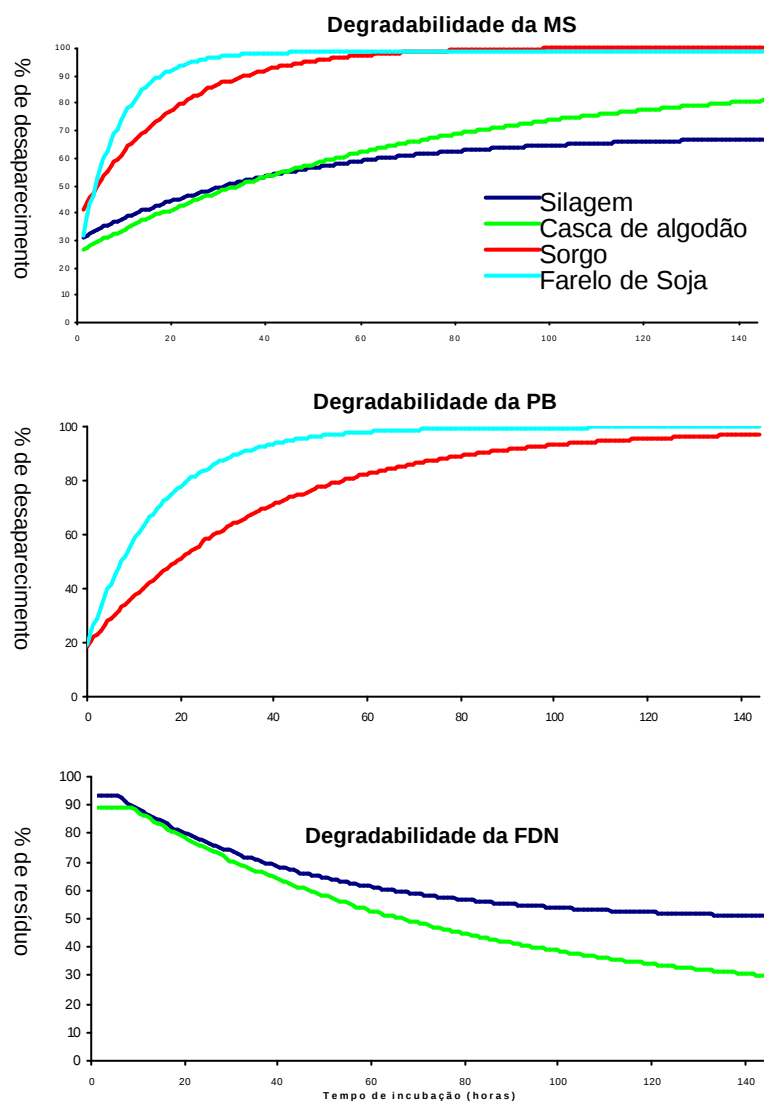


Figura 1— Estimativa da degradabilidade da MS, PB e FDN, em função do tempo de incubação ruminal

Observa-se que a casca de algodão apresentou menores taxas de degradação tanto para MS quanto para FDN em relação aos demais ingredientes. Resultados semelhantes foram reportados por Moore et al. (1990), onde a taxa de degradação da MS da fração b foi de 5,6 e 3,3%/h para o feno de alfafa e a palhada de trigo e de 1,9%/h para a casca de algodão, valor próximo ao encontrado neste trabalho de 1,42%/h para o mesmo alimento. Hsu et al. (1987) encontraram taxa de desaparecimento da MS de 0,8%/h para casca de algodão, entretanto neste estudo os tempos de incubação foram de três a 36h. Garleb et al. (1991) sugeriram que os elevados teores de celulose cristalina e lignina da casca de algodão são responsáveis pelo lento desaparecimento da FDN em ensaios *in situ* e *in vivo*. Torrent et al. (1994), avaliando a digestibilidade da fibra de subprodutos, reportaram menores taxas de desaparecimento, digestibilidade ruminal e total da FDN da casca de algodão em relação à polpa de beterraba, grãos de cervejaria e feno de alfafa, encontrando taxa de desaparecimento da fração potencialmente degradável da FDN de 3,5%/h e tempo de latência (*lag time*) de 2,7 horas para a casca de algodão, resultado discordante do observado no presente trabalho de 1,46%/h e 7,26 horas, respectivamente. Embora lentamente degradável, a casca de algodão, em relação à silagem de capim-elefante, apresentou maior porcentagem da fração potencialmente degradável da MS (62,28 versus 37,14%) e da FDN (68,46 versus 43,65%) e menor teor de resíduo indigestível.

A taxa de passagem foi estimada pelas equações propostas pelo NRC (2001), apresentando média de 5,06%/h. Utilizando essa taxa de passagem, a degradação efetiva da MS da casca de algodão e da silagem de capim foram de 38,74 e 41,12%, respectivamente.

Na Tabela 9 são apresentadas as médias do pH e da concentração de N amoniacal (N-NH₃) do fluído ruminal coletado imediatamente antes e quatro horas após a alimentação. Os valores de pH, que variaram de 6,60 a 7,22, não diferiram entre os tratamentos. Coelho da Silva & Leão (1979) citaram que valores de pH inferiores a 6,0 podem acarretar diminuição da atividade das bactérias fibrolíticas, reduzindo, conseqüentemente, a degradação da fibra.

Tabela 9 – Médias, equações de regressão (REG) e coeficiente de variação (CV) do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃, mg/dL) no fluido ruminal coletado antes (0h) ou quatro horas após o fornecimento da dieta (4h), em função dos níveis de casca de algodão na dieta

Itens	Níveis de Casca de Algodão (%)				REG	CV (%)
	0	10	20	30		
pH 0h	7,22	7,20	7,10	7,07	$\hat{Y}=7,15$	3,11
pH 4h	6,85	6,85	6,75	6,60	$\hat{Y}=6,76$	3,16
N-NH ₃ 0h	11,32	8,57	7,31	6,37	$\hat{Y}=8,39$	35,04
N-NH ₃ 4h	38,36	42,33	40,66	36,48	$\hat{Y}=39,46$	18,90

As concentrações de N-NH₃ foram suficientes para suportar o crescimento bacteriano, conforme valor mínimo citado pelo NRC (1989) de cinco mg N-NH₃/dL. A concentração N-NH₃ é consequência do equilíbrio entre sua produção, absorção e utilização pelos microrganismos. Apesar de estatisticamente similares, notam-se diferenças numéricas entre os tratamentos, indicando uma maior assimilação de N-NH₃ pelos microrganismos ruminais dos animais alimentados com casca. Kropp et al. (1977) encontraram valores de N-NH₃ ruminais de 12,4 mg/dL em amostras colhidas 30 minutos após o fornecimento de dieta contendo 75% de casca de algodão e 1,5% de uréia.

Na Tabela 10 estão apresentadas as médias dos compostos nitrogenados microbianos, proteína microbiana e eficiência de síntese microbiana, calculadas através do método das bases purinas no omaso ou estimada pelos derivados urinários de purinas. A relação NRNA:N-total dos microrganismos não foi afetada pelos níveis de casca de algodão apresentando média de 0,153. Não foram detectadas diferenças entre as duas metodologias de coleta. Utilizando 116 observações em 24 bovinos não-castrados fistulados no rúmen, abomaso e íleo, em cinco experimentos, Rennó et al. (2000) verificaram que a produção de proteína microbiana obtida pelos DP na urina ou pelas bases purinas no abomaso não diferiu, e concluíram que o método de

excreção urinária de DP pode ser utilizado para estimar a produção de proteína microbiana.

Tabela 10 – Médias e probabilidades (P) para os compostos nitrogenados microbianos (Nmic) e PB microbiana (PBmic), em g/dia, e para a eficiência de síntese microbiana (Efic), em g de PB microbiana por quilo de NDT consumido, obtidas pelas bases purinas omasais ou estimadas pelos derivados urinários de purinas

Ítems	Médias		P
	Bases Purinas no omaso	Derivados de purinas urinários	
Nmic	81,60	90,43	ns
PBmic	510,00	565,16	ns
Efic	119,40	128,44	ns

ns – não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Estão apresentadas na Tabela 11 as médias, coeficientes de variação e equações de regressão obtidas para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico e purinas totais, purinas microbianas absorvidas, compostos nitrogenados microbianos e eficiência microbiana, em função dos níveis de casca de algodão nas rações. Verificou-se comportamento linear para a excreção urinária de alantoína e derivados de purinas assim como para as purinas absorvidas e produção de proteína microbiana, o que coincide com o comportamento verificado para os consumos de MS, de NDT e de carboidratos degradados no rúmen (Tabela 5). O aumento no consumo observado, elevou a quantidade de nutrientes disponíveis à fermentação ruminal, permitindo maior crescimento microbiano. Além disso, a elevação no consumo de MS pode ter aumentado a taxa de passagem da digesta ruminal e conseqüentemente o arraste de microrganismos. Com o menor tempo de permanência no rúmen, a idade média dos microrganismos diminui, ocorrendo uma redução nos requerimentos de manutenção, menores taxa de predação e de morte microbiana (Van Soest, 1994) reduzindo a reciclagem de energia e N, disponibilizando ainda mais

nutrientes para o crescimento microbiano. Além disso, os animais que consumiram maiores proporções de silagem de capim-elefante ingeriram maior quantidade de compostos oriundos da fermentação no silo que podem causar inibição do desenvolvimento microbiano.

Magalhães (2003), estudando níveis similares de casca de algodão, não encontrou diferenças significativas na produção de proteína microbiana estimada através da excreção dos derivados de purinas urinários em amostra de urina *spot*, porém observou diferenças numéricas nas produções de PBmic para os tratamentos contendo 0, 10 e 20% de casca (650,11, 727,93 e 760,48 g de PBmic/dia, respectivamente).

Tabela 11 – Médias, equações de regressão (REG) e coeficientes de variação (CV) e determinação (r^2) para as excreções urinárias de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU) e derivados de purinas (DP), purinas microbianas absorvidas (Pabs), compostos nitrogenados microbianos (N mic), proteína bruta microbiana (PB mic) e eficiência microbiana (Efic), em função dos níveis de casca de algodão nas dietas

Itens	Níveis de casca de algodão (%)				REG	r^2	CV (%)
	0	10	20	30			
ALA ¹	90,05	122,70	127,28	146,66	$\hat{Y}=1,7441*CA + 95,5118$	0,25	27,37
AcU ¹	7,52	8,95	8,77	10,25	$\hat{Y}= 8,87$		46,43
DP ¹	97,57	131,64	136,06	156,91	$\hat{Y}=1,8242*CA + 103,183$	0,25	27,30
Pabs ¹	85,60	125,71	130,94	155,25	$\hat{Y}=2,1418*CA + 92,2486$	0,25	33,10
N mic ²	62,23	91,40	95,20	112,87	$\hat{Y}= 1,5572*CA + 67,069$	0,25	33,10
PB mic ²	388,97	571,23	595,00	705,46	$\hat{Y}= 9,7324*CA + 419,181$	0,25	33,10
Efic ³	105,19	133,05	132,70	142,84	$\hat{Y}=128,44$		29,31
Efic ⁴	237,74	306,19	272,57	269,09	$\hat{Y}=271,40$		33,65
Efic ⁵	299,94	369,40	317,54	322,61	$\hat{Y}=327,37$		30,65

¹ - mmol/dia;

² - g/dia;

³ - g PBmic/kgNDT consumido;

⁴ - g MSmic/kgMODr consumido;

⁵ - g MSmic/kgCHOdr consumido.

Apesar de não terem sido detectadas diferenças significativas para as concentrações de N-NH₃ ruminal, observaram-se menores concentrações de

amônia nos tratamentos contendo maiores proporções de casca (Tabela 9) o que indicaria uma maior assimilação de amônia pelas bactérias e conseqüentemente maior produção microbiana.

A eficiência de síntese microbiana não foi influenciada pelos teores de casca de algodão na dieta e apresentou valor médio de 128,44 g PBmic/kg NDT consumido, sendo próximo ao valor proposto pelo NRC (2001) de 130 g PBmic/kg NDT e aquele estimado por Magalhães (2003) de 128,72 g PBmic/kg NDT. Quando expressa em g de MS microbiana por kg de carboidrato degradado no rúmen, a eficiência média foi inferior à considerada pelo CNCPS, de 400gMSmic/kg CHO_{dr}, descrita por Russell et al. (1992).

As excreções diárias de uréia e as concentrações de N uréico no soro, estão apresentadas na Tabela 12. A excreção de uréia em função do peso do animal, comportou-se de maneira similar à concentração de NUS, confirmando a afirmação de Harmeyer & Martens (1980) de que a quantidade de uréia excretada na urina é diretamente proporcional à sua concentração no soro. Embora não tenham sido significativamente diferentes, as concentrações de N-NH₃ no rúmen foram numericamente inferiores nos tratamentos com maiores níveis de casca de algodão (Tabela 9) concordando com a menor concentração de NUS.

Tabela 12 – Médias, equações de regressão (REG), coeficientes de variação (CV) e determinação (r²) para N-uréia sérica (NUS) e excreções diárias de uréia (EU), em função dos níveis de casca de algodão nas rações

Itens	Níveis de Casca de Algodão				REG	CV (%)	r ²
	0	10	20	30			
NUS (mg/dL)	19,20	18,25	17,30	15,48	$\hat{Y} = 19,3747 - 0,3231 \cdot CA$	11,57	0,32
EU(mg/kgPV)	578,23	570,07	474,43	441,11	$\hat{Y} = 592,012 - 5,0699 \cdot CA$	13,93	0,39
EU (g/dia)	114,73	134,86	111,17	113,61	$\hat{Y} = 118,59$	43,49	-

Segundo Gonda et al. (1996), um aumento na síntese de proteína microbiana aumentaria a eficiência de utilização do N-NH_3 pelos microrganismos ruminais, o que diminuiria os níveis de uréia no fluido corporal. Os níveis crescentes de casca de algodão permitiram uma melhor utilização da amônia pelos microrganismos ruminais, diminuindo a difusão desta pelo epitélio ruminal e conseqüentemente reduzindo a concentração sérica e a excreção urinária de uréia. Os resultados obtidos concordam com os encontrados por Magalhães (2003), que também encontrou efeito linear decrescente da concentração de NUS e da excreção de uréia, em relação ao peso vivo, em função dos níveis de casca nas dietas.

Conclusões

A casca de algodão mostrou-se um bom volumoso alternativo, podendo ser fornecida até o nível de 30% na MS total, pois favoreceu o consumo dos nutrientes sem afetar a digestibilidade dos mesmos.

Referências Bibliográficas

- AKINYODE, A.; HALL, M. B.; STAPLES, C. R. et al. Effect of cottonseed hulls on feed intake and fecal flow in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, (Supplement. 1), p.41, 1999.
- ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, n.12, p. 3063 – 3075, 1996.
- BARTLE, S.J., PRESTON, R.L., MILLER, M.F. Dietary energy source and density: effects if roughage source, roughage equivalent, tallow level and steer type on feedlot performance and carcass characteristics. **Journal of Animal Science**, v.72, p.1943-1953, 1994.
- CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C. et al. Composition of ruminal bacteria harvest from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.9, p.2480-2488, 1990.

- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details (Occasional publication). INTERNATIONAL FEED RESOURCES UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p. 1992.
- CHURCH, D.C. **The ruminant animal – Digestive physiology and nutrition.** Illinois: Waveland press, Inc, 1993. 564 p.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2304-2323, 1992.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes.** Piracicaba: Livroceres, 1979. 380p.
- DEFOOR, P.J., GALYEAN, M.L., SALYER, G.B. et al. Effects of roughage source and concentration on intake and performance by finishing heifers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1395-1404, 2002.
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- GARLEB, K.A.; BOURQUIN, L.D.; HSU, J.T. et al. Isolation and chemical analyses of nonfermented fiber fractions of oat hulls and cottonseed hulls. **Journal of Animal Science**, v.69, n.3, p.1255-1271, 1991.
- GONDA, H.L., EMANUELSON, M., MURPHY, M. The effect of roughage to concentrate ratio in the diet on nitrogen and purine metabolism in dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, v.64, p.27-42, 1996.
- GU, S.C.; MOSS, B.R. Lactation performance of cows fed low and high rumen undegradable protein diets with varying levels of cottonseed hulls and protein. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.152, 1996 (Supplement 1).
- HALE, W.H.; LAMBETH, C.; THEURER, B. et al. Digestibility and utilization of cottonseed hulls by cattle. **Journal of Animal Science**, v.29, n.5, p.773-776, 1969.
- HALL, M.B.; AKINYODE, A. Cottonseed hulls: working with a novel fiber source. In: Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, 11., 2000, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville, 2000. p.179-186.

- HALL, M.B. **Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen**. University of Florida, 2000. p. A-25 (Bulletin 339, April- 2000).
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.
- HSU, J.T.; FAULKNER, D.B.; GARLEB, K.A. et al. Evaluation of corn fiber, cottonseed hulls, oat hulls and soybean hulls as roughage sources for ruminants. **Journal of Animal Science**, v.65, p.244-255, 1987.
- ILLIUS, A.M.; JESSOP, N.S. Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3052-3062, 1996.
- KROPP, J. R.; JOHNSON, R. R.; MALES, J. R. et al. Microbial protein synthesis with low quality roughage rations: Level and source of nitrogen. **Journal of Animal Science**, v.46, n.4, p.844-854, 1977.
- LEÃO, M.I.; COELHO DA SILVA, J.F. Técnicas de fistulação de abomaso em bezerros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 1. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 17., 1980, Fortaleza. **Anais...**Fortaleza:SBZ, 1980. p.37.
- LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Técnica de coleta de digesta omasal para estudos de digestão parcial em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife, PE. **Anais...**Recife: SBZ, 2002. (CD-ROM). Nutrição de ruminantes.
- MAGALHÃES, K.A. **Níveis de uréia ou casca de algodão na alimentação de novilhos de origem leiteira em confinamento**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 90p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L. et al. Consumo e desempenho de novilhos de origem leiteira em confinamento alimentados com diferentes níveis de casca de algodão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., Santa Maria. **Anais...**Santa Maria:SBZ, 2003. (CD-ROM). Nutrição de Ruminantes.
- MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.9, p.1437-1446, 1980.
- MORALES, J.L.; VAN HORN, H.H.; MOORE, J.E. Dietary interaction of cane molasses with source of roughage: intake and lactation effects. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.2331-2338, 1989.
- MOORE, J.A., POORE, M.H., SWINGLE, R.S. Influence of roughage source on kinetics of digestion and passage, and on calculated extents of ruminal

- digestion in beef steers fed 65% concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.68, p.3412-3420, 1990.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.:National Academy, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7. ed.National Academic Press. Washinton, D.C.: 2001. 381p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 6. ed.National Academic Press. Washinton, D.C.: 1989. 158p.
- NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.47, p.227-246, 1993.
- ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, n.2, p.499-503, 1979.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Indicadores interno ou externo e efeito da contaminação da fibra em detergente neutro sobre a digestibilidade aparente total em novilhos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...**Recife: SBZ, 2002. (CD-ROM). Nutrição de ruminantes.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.J., et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C., 2002. **Análise de Alimentos** (Métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa: Editora UFV – Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- TORRENT, J., JOHNSON, D.E., KUJAWA, M.A. Co-product fiber digestibility: kinetic and in vivo assessment. **Journal of Animal Science**, v.72, p.790-795, 1994.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 1998. 150p. (Manual do usuário).
- USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction, Nutrition and Development**, v.25, n.6, 1037- 1046, 1985.

- VALADARES FILHO, S.C. **Digestão total e parcial da matéria seca e carboidratos em bovinos e bubalinos.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1985. 147p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1985.
- VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. et al. Modelos nutricionais alternativos para otimização de renda na produção de bovinos de corte. In: SIMCORTE – SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002a. p.197-254.
- VALADARES FILHO, S.C.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CAPPELLE, E.R. **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos. CQBAL 2.0.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Suprema Gráfica Ltda. 2002b. 297p.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant.** 2. ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.
- VIEIRA, P. F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes.** Viçosa: UFV,1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.

Excreção de Creatinina em Bovinos Holandeses

Resumo – Com o objetivo de determinar a excreção diária de creatinina na urina em bovinos, foram realizados quatro experimentos. No primeiro, 15 vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, foram alocadas em um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos em função da produção de leite (5,88; 18,54 e 32,6 kg/dia para os tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA). A dieta foi constituída de silagem de milho à vontade e um kg de concentrado para cada três kg da média diária de leite produzido. No segundo, 22 novilhas com diferentes pesos, foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos em função do peso vivo (523, 453, 315, 235 e 118 kg para os tratamentos I, II, III, IV e V, respectivamente). A alimentação foi constituída de silagem de milho à vontade e 1,5 kg de concentrado por dia para as novilhas dos tratamentos I, II, III e IV, e dois kg de concentrado para as novilhas do tratamento V. No terceiro, foram utilizados quatro novilhos de grau de sangue predominantemente Holandês, em delineamento em quadrado latino 4X4, com quatro tratamentos constituídos de dietas com níveis crescentes de casca de algodão peletizada (0, 10, 20 e 30%, em substituição à silagem de capim-elefante, sendo a dieta total constituída de 60% de volumoso). No quarto, foram utilizadas 15 vacas lactantes com produção de leite média de 24 kg/dia e peso médio de 630 kg, em blocos ao acaso com quatro tratamentos constituídos de tempos de duração da coleta total de urina (seis, 12, 18 e 24

horas). Em todos os experimentos foram realizadas coletas totais de urina durante 24 horas, sendo determinado o volume urinário diário. A excreção de creatinina pelas vacas não foi influenciada pela produção de leite (Experimento I), apresentando valor médio de 24,04 mg/kgPV. No Experimento II, a excreção de creatinina (em mg/kgPV) aumentou linearmente com a diminuição no peso das novilhas, de acordo com a seguinte equação: excreção diária de creatinina (mg/kgPV) = $32,27 - 0,01093 \cdot PV(kg)$. Os níveis de casca de algodão não influenciaram a excreção de creatinina nos novilhos do terceiro Experimento, que foi em média de 27,99 mg/kgPV. Não foi encontrada diferença entre a estimativa da excreção de creatinina no Experimento IV, obtida pelos tempos de coleta de seis, 12 e 18 horas e a observada em 24 horas, logo a excreção nos períodos diurno e noturno foi similar. A excreção de creatinina pelas vacas do Experimento IV foi, em média, de 24,07 mg/kgPV. A excreção de creatinina foi constante e não foi afetada por fatores dietéticos, o que permite a utilização da creatinina como indicador metabólico para estimar a excreção de compostos urinários.

Palavras-chave: coleta de urina, *spot*, volume urinário, vacas, novilhas, novilhos.

Creatinine Excretion in Holstein Cattle

Abstract - To determine the daily urinary creatinine excretion Holstein cattle, four experiments was conducted. In the first, 15 Holstein cows, pure and crossbred, were distributed in a completely randomized design with three treatments according to milk production (5.88, 18.54 and 32.6 kg/day to treatments LOW, MEDIUM and HIGH, respectively). The diet was constituted by corn silage *ad libitum* and one kg of concentrate to each three kg of milk produced. In the second, 22 heifers with different live weight were distributed in completely randomized design with five treatments according to the live weight (523, 453, 315, 235 and 118 kg to treatments I, II, III, IV and V, respectively). The diet was constituted of corn silage *ad libitum* and 1.5 kg/day of concentrate to heifers of treatments I, II, III and IV and 2 kg/day of concentrate to heifers of the treatment V. In the third, four predominantly Holstein steers were utilized in 4x4 square Lattice design with four treatments constituted by diets with increasing levels of pelleted cottonseed hulls (0, 10, 20 and 30%, in substitution of elephantgrass silage, with 60% of roughage in the diet). In the forth, 15 lactating cows, average 24 kg of milk/day and weighting 630 kg, in average, were distributed in randomized blocks design, with four treatments constituted by different urine total collection times (6, 12, 18 and 24 hours). In all experiments, total urine collection during 24 hours was conducted, and was determined the daily urinary volume excretion. The creatinine excretion by cows

was not affected by milk production (experiment I), and was, in average, of 24.04 mg/kgLW. In Experiment II, the creatinine excretion (mg/kgLW) increased linearly with the decrease of the heifer's live weight, according to following equation: daily creatinine excretion (mg/kgLW) = $32.27 - 0.01093 \cdot LW(kg)$. The cottonseed hulls levels didn't affect the creatinine excretion by the steers of the third Experiment, which was, on average, of 27.99 mg/kgLW. There wasn't difference among the creatinine excretion in the Experiment four, obtained by the times of collection of six, 12 and 18 hours and the observed in 24 hours, soon the excretion in the periods of day and night was similar. The creatinine excretion by the cows of the Experiment IV was, on average, 24.07 mg/kgLW. The creatinine excretion was constant and wasn't affected by dietary factors, what allows the use of the creatinine as a metabolic marker to estimate the urinary nitrogenous compounds excretion.

Introdução

A mensuração da creatinina sérica e urinária em humanos é freqüentemente utilizada para avaliação da função renal.

A creatinina é o produto de degradação da creatina-fosfato do tecido muscular. A creatina-fosfato é um composto químico que possui ligação de fosfato contendo alta quantidade de energia. Quando a creatina-fosfato é decomposta a íons fosfato e creatina, ocorre liberação de energia que é utilizada para reconstituição do ATP usado durante a contração muscular (Guyton & Hall, 1997). A molécula de creatina-fosfato é degradada espontaneamente a taxas relativamente constantes formando a creatinina. A creatinina é um metabólito do qual o organismo já não necessita, não sendo utilizada para formação de novas moléculas, sendo portanto, excretada em grandes quantidades pelos rins, sem ser reabsorvida nos túbulos renais. Desta forma, a excreção urinária de creatinina é muito próxima à quantidade de creatinina filtrada do soro. A produção diária de creatina, e por conseguinte, a excreção de creatinina, é dependente da massa muscular e portanto proporcional ao peso do animal (Koren, 2000). Assim, uma vez determinada a excreção diária de creatinina em função do peso do animal e considerando a concentração desta constante ao longo do dia, pode-se estimar o volume urinário excretado diariamente, a partir da concentração de creatinina em uma amostra de urina coletada ao longo de dia (*spot*) de um animal de peso conhecido. A partir da relação entre a excreção diária esperada e a concentração de creatinina na urina pode-se estimar a excreção urinária de outros metabólitos como uréia, ácido úrico e alantoína.

A determinação da excreção de creatinina torna possível simplificar metodologias que requerem a coleta total de urina, pois, utilizando-se a concentração de creatinina na urina como indicador da produção urinária, pode-se estimar a excreção dos derivados de purina e outros compostos nitrogenados, uma vez que a excreção de creatinina é relativamente constante em função do peso vivo e pelo fato de ser pouco ou não afetada por fatores dietéticos (Susmel et al., 1994; Chen et al., 1995; Vagnoni et al., 1997; Rennó

et al., 2000; Oliveira et al., 2001; Silva et al., 2001; Pimpa et al., 2001; Rennó et al., 2003). Então, se coletada uma única amostra diária de urina de um animal com peso conhecido, denominada de amostra *spot*, e determinada a concentração de creatinina, de uréia e de derivado de purinas, as excreções de derivados de purinas e de uréia podem ser estimadas, desde que seja conhecida a excreção diária de creatinina por unidade de peso animal.

Entretanto, como a creatinina é sintetizada no tecido muscular e a proporção de tecidos varia com diferentes faixas de peso dos animais, podem ocorrer variações na excreção diária de creatinina, expressa em função do peso vivo, em animais em diferentes estádios de desenvolvimento.

Possíveis variações na excreção de creatinina em função do nível de produção de leite, que podem ocasionar mudanças no metabolismo muscular devido à mobilização de aminoácidos para suportar a lactação, devem ser investigadas para a validação da coleta de urina *spot* em vacas lactantes.

Considerando o interesse de muitas pesquisas conduzidas no Brasil e no exterior em quantificar a excreção de nitrogênio pela urina ou da produção de proteína microbiana utilizando a coleta *spot* de urina, torna-se essencial o conhecimento da excreção de creatinina para animais em diferentes estádios fisiológicos (novilhas e novilhos de diferentes pesos ou idades e vacas em lactação), ou diferentes potenciais de produção de leite (baixo, médio e alto).

Deste modo, objetivou-se determinar o efeito do estágio fisiológico dos animais (novilhas em diferentes faixas de peso), do potencial de produção de leite (baixo, médio e alto), do tempo de duração da coleta total de urina em vacas e de diferentes proporções de casca de algodão e silagem de capim-elefante na dieta de novilhos sobre a excreção urinária de creatinina.

Material e Métodos

Foram realizados três experimentos na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) e um experimento no Laboratório

Animal do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG.

A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas de posição 20°45'20" de latitude sul e 45°52'40" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 657m. A temperatura média e a precipitação pluviométrica observadas nos anos de 2000 e 2001 foram de, respectivamente, 20°C e 1218 mm e 20,7°C e 1148 mm (Universidade Federal de Viçosa, 2002).

Experimento I

Utilizaram-se quinze vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, em sistema de confinamento total, tipo *Tie Stall*, em baias individuais, providas de cocho e bebedouro. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos em função do nível de produção de leite e cinco repetições:

Tratamento ALTA – cinco vacas com produção de leite média de 32,60 kg/dia (entre 28 e 38 kg/dia);

Tratamento MÉDIA – cinco vacas com produção de leite média de 18,54 kg/dia (entre 14 e 25 kg/dia);

Tratamento BAIXA – cinco vacas com produção de leite média de 5,88 kg/dia (entre quatro e sete kg/dia).

As vacas dos tratamentos BAIXA, MÉDIA e ALTA, estavam, em média, com 45, 33 e 17 semanas de lactação e pesavam, em média, 670, 578 e 584 kg, respectivamente.

Os animais já estavam adaptados às dietas. A alimentação, na forma de mistura completa, foi equivalente à do rebanho da UEPE-GL-UFV, constituída de silagem de milho à vontade e receberam um kg de concentrado para cada três kg da média diária de leite produzido na semana anterior. A alimentação foi fornecida diariamente às 7:00 e 16:00h, permitindo-se sobras de no máximo 5% que foram retiradas pela manhã, quantificadas, amostradas e armazenadas, em saco plástico, a -15°C. A silagem de milho continha, em média, 25,34% de matéria seca (MS); 6,67% de proteína bruta (PB); 3,7% de

extrato etéreo (EE); 56,57% de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e 31,39% de carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), na base seca. O concentrado continha 28,69; 2,77; 11,7 e 48,87% (na MS) de PB, EE, FDN e CNF, respectivamente.

As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia, registrando-se a produção de leite e pesadas no início e ao término do período experimental, que teve duração de nove dias.

No oitavo dia foi realizada coleta de urina de cada animal, durante 24 horas, utilizando-se cateteres de Folley nº26, duas vias, com balão de 50 mL. Na extremidade externa do cateter foi acoplada mangueira de polietileno que conduziu a urina até recipientes de plástico com tampa, contendo 500 mL de ácido sulfúrico a 20%. Ao término das 24 horas de coleta, a urina foi pesada, homogeneizada e amostrada para determinação da concentração de creatinina. Foi considerada uma densidade da urina coletada de um quilo por litro, sendo o peso de urina acumulada convertido em volume de urina. A coleta total foi acompanhada durante as 24 horas para verificação de possíveis perdas de urina.

A creatinina foi determinada por sistema colorimétrico com reação de ponto final, utilizando picrato e acidificante. Neste método a creatinina e alguns componentes urinários reagem com uma solução de picrato em meio alcalino formando um cromógeno vermelho-alaranjado que é medido fotometricamente a 520 nm. Em seguida, com a adição de um acidificante o complexo picrato de creatinina é decomposto, o que não ocorre com os cromógenos formados pela reação com outros componentes urinários. Realizou-se novamente a leitura colorimétrica a 520nm e foi determinada a diferença entre as duas leituras, eliminando a interferência das demais substâncias urinárias que reagem com o picrato. Comparando-se a absorbância de um padrão com a diferença entre as duas leituras obteve-se a concentração de creatinina.

Experimento II

Foram utilizadas 22 novilhas com diferentes pesos, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos:

Tratamento I - quatro novilhas com peso médio de 523 kg (entre 494-546 kg);
Tratamento II - cinco novilhas com peso médio de 453 kg (entre 443-471 kg);
Tratamento III - quatro novilhas com peso médio de 315 kg (entre 310-345 kg);
Tratamento IV - cinco novilhas com peso médio de 235 kg (entre 203-274 kg);
Tratamento V - quatro novilhas com peso médio de 118 kg (entre 107-137 kg).

Os animais foram mantidos em baias providas de comedouros e bebedouros individuais e alimentados, duas vezes ao dia, com silagem de milho à vontade e concentrado em quantidades equivalentes ao manejo do rebanho da UEPE-GL. As novilhas dos tratamentos I, II, III e IV receberam 1,5 kg por dia de concentrado formulado para novilhas de seis a 12 meses. As novilhas do tratamento V receberam dois kg por dia do concentrado formulado para as novilhas de três a seis meses do rebanho da UEPE-GL. A silagem de milho continha, em média, 24,93% de MS; 6,56% de PB ; 3,07% de EE; 54,1% de (FDN_{cp}) e 34,88% de CNF_{cp}, na base seca. O concentrado para novilhas de seis a 12 meses continha 25,45; 3,13; 8,66 e 57,31% (na MS) de PB, EE, FDN e CNF, respectivamente. O concentrado para novilhas de três a seis meses continha 26,17; 3,12; 8,68 e 56,6% (na MS) de PB, EE, FDN e CNF, respectivamente.

O período experimental teve duração de 10 dias, sendo a alimentação fornecida diariamente às 8:00 e 16:00 h, de modo a permitir sobras de 5% na base da matéria seca total, que foram quantificadas e amostradas diariamente pela manhã.

Os animais foram pesados no início e ao término do período experimental, sendo calculado o peso médio das novilhas.

No oitavo dia do período, foi realizada coleta de urina de cada animal durante 24 h, utilizando-se cateteres de Folley de números 14 a 26, de acordo com o tamanho da novilha, procedendo-se à quantificação do volume urinário em 24 horas e processando-se as amostras da mesma forma que no Experimento I. A coleta de urina foi acompanhada 24 horas.

Experimento III

Foram utilizados quatro animais de grau de sangue predominantemente Holandês, com peso médio de 259 kg, em delineamento em quadrado latino 4X4, sendo quatro animais, quatro períodos experimentais e quatro tratamentos. Os períodos experimentais tiveram duração de 12 dias, sendo realizada a coleta total de urina durante 24 horas no 11º dia de cada período experimental, conforme metodologia descrita no capítulo um. Os quatro tratamentos constituíram dietas com níveis crescentes de casca de algodão peletizada (0, 10, 20 e 30%), em substituição (na base da matéria seca) à silagem de capim-elefante como volumoso, sendo a dieta total constituída de 60% de volumoso, na base seca. Demais informações sobre composição das dietas, consumo e digestibilidade foram apresentadas no capítulo anterior.

Experimento IV

Foram utilizadas 15 vacas lactantes com produção média de 24 kg/dia. A alimentação foi constituída de silagem de milho, casca de algodão e concentrado. O experimento foi conduzido por Assis (2004, dados não publicados).

Os animais foram pesados antes e após as 24 horas da coleta de urina, e o peso médio de todas as vacas foi de 630 kg.

Foi realizada coleta de urina de cada animal da mesma forma que no Experimento I, nos tempos de coleta de seis, 12, 18 e 24 horas. Ao final de cada tempo de coleta, a urina foi pesada e homogeneizada e alíquotas de 50 mL foram armazenadas para posterior determinação da concentração de creatinina. A excreção acumulada de creatinina nos tempos de coleta foi calculada pelo produto do volume urinário excretado pela concentração de creatinina nos respectivos tempos. Para o cálculo da excreção horária, as excreções acumuladas em seis, 12, 18 e 24 horas foram divididas por seis, 12, 18 e 24, respectivamente. A estimativa da excreção diária pelos tempos de coleta foi calculada pela multiplicação da excreção horária de cada tempo de coleta por 24. Foi calculada a excreção de creatinina, em mg por kg de peso

vivo, para cada horário de coleta. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, sendo quatro tratamentos (tempos de coleta) e 15 repetições. Cada animal foi considerado um bloco.

Os resultados foram avaliados por meio de análises de variância, teste de médias e regressão, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), UFV (1998). Os critérios utilizados para escolha do modelo foram o coeficiente de determinação (r^2) e a significância observada por meio do teste F, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Estão apresentadas na Tabela 1 as médias e coeficientes de variação da excreção de creatinina expressa em g/dia, mg/kgPV/dia, mg/PV^{0,75} ou mmol/PV^{0,75} em função dos tratamentos do Experimento I.

A excreção de creatinina não foi influenciada pela produção de leite (tratamento), apresentando valor médio de 24,04 mg/kgPV. Excreção similar foi encontrada por Silva et al. (2001), que relatou excreção média de 23,6 mg/kgPV em vacas mestiças (Holandês-Gir) alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de uréia.

Tabela 1 – Médias, equações de regressão (REG) e coeficientes de variação (CV), obtidas para as excreções diárias de creatinina (EC) em g por dia (g/dia), em mg por quilo de peso vivo (mg/kgPV), em mg por quilo de peso metabólico (mg/PV^{0,75}) e em mmol por quilo de peso metabólico (mmol/ PV^{0,75}) em função do nível de produção de leite

Itens	Produção de leite			REG	CV (%)
	ALTA	MÉDIA	BAIXA		
EC (g/dia)	14,18	13,79	16,10	$\hat{Y}=14,69$	9,70
EC (mg/kgPV)	24,29	23,87	23,98	$\hat{Y}=24,04$	4,48
EC (mg/PV ^{0,75})	119,36	116,93	122,04	$\hat{Y}=119,44$	5,37
EC (mmol/PV ^{0,75})	1,06	1,03	1,08	$\hat{Y}=1,06$	5,37

Oliveira et al. (2001), em estudo com vacas holandesas, recebendo dietas com níveis crescentes de uréia, também não verificaram diferenças nas excreções de creatinina, que foram em média 23,41 mg/kgPV. O aumento na produção de leite corrigida para gordura e ausência de diferença na excreção de creatinina em vacas alimentadas com diferentes proporções de volumoso e concentrado foi verificado em um dos experimentos conduzidos por Gonda et al. (1996), que encontraram excreção média de 8,75 mg de N-creatinina por kg de PV (23,55 mg de creatinina/kgPV). Valores um pouco inferiores foram relatados por Valadares et al. (1997a) que encontraram média de 21,69 mg/kgPV, em vacas lactantes mestiças Holandês-Zebu, e 25,16 mg/kgPV em vacas secas, enquanto Valadares et al. (1999) reportaram excreção média de 29 mg/kgPV em vacas Holandesas produzindo em média 40 L de leite por dia.

A média da excreção diária de creatinina, expressa em função do peso metabólico (mg/kgPV^{0,75}), encontrada neste trabalho foi similar à média de coletas em tempos de 12 a 72 horas (128 mg/kgPV^{0,75}) relatada por Valadares et al. (1997b), em experimento com vacas 7/8 Holandês-Zebu produzindo 19,6 kg de leite corrigido para 4% de gordura por dia, e ficou dentro da faixa de

variação de 105 a 138 mg/kgPV^{0,75} encontrada na literatura em trabalhos com vacas leiteiras (Susmel et al., 1994; Gonda et al., 1996; Vagnoni et al., 1997). Os resultados indicam que o nível de produção de leite não influencia a excreção de creatinina, portanto essa variável não precisa ser considerada para estimar a excreção diária de creatinina.

O estágio da lactação variou de cinco a 49 semanas, sendo em média de 17, 33 e 45 semanas para os tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA, e não influenciou a excreção diária de creatinina. Independentemente da produção, não se detectaram diferenças na excreção de creatinina (mg/kgPV) em função do peso das vacas (dados não apresentados).

Na Tabela 2 são apresentados os resultados obtidos no Experimento dois, com novilhas em diferentes faixas de peso. A excreção de creatinina, em g/dia, foi maior nas novilhas mais pesadas e foi altamente correlacionada com o peso vivo ($r^2=0,98$).

Quando expressa em função do peso vivo ou do peso metabólico, a excreção de creatinina aumentou linearmente com a diminuição no peso das novilhas. Esta diferença deve estar associada às variações na proporção de tecidos de animais em crescimento. Conforme já discutido, a creatinina é oriunda do metabolismo protéico do tecido muscular e excretada proporcionalmente à quantidade deste tecido no corpo do animal.

Tabela 2 – Médias, equações de regressão (REG) e coeficientes de variação (CV) e de determinação (r^2), obtidas para as excreções diárias de creatinina (EC) em g por dia (g/dia), em mg por quilo de peso vivo (mg/kgPV), em mg por quilo de peso metabólico (mg/PV^{0,75}) e em mmol por quilo de peso metabólico (mmol/PV^{0,75}) em função do peso médio das novilhas

Itens	Peso médio (kg)					REG	CV (%)	r^2
	523	453	315	235	118			
EC (g/dia)	14,07	12,20	9,21	7,10	3,62	$\hat{Y}=0,9772 + 0,0250*PV$	8,80	0,98
EC (mg/kgPV)	26,43	26,89	29,15	30,26	30,53	$\hat{Y}=32,27 - 0,01093*PV$	3,53	0,70
EC (mg/PV ^{0,75})	100,6	118,3	122,8	124,1	126,9	$\hat{Y}=93,81 - 0,32977*PV^{0,75}$	4,45	0,68
EC (mmol/PV ^{0,75})	0,89	1,05	1,09	1,10	1,12	$\hat{Y}=0,83 - 0,000029*PV^{0,75}$	4,45	0,68

Simpfendorfer (1974), citado pelo NRC (2001), resumizou dados relativos à composição corporal de bovinos do nascimento à maturidade e encontrou que 96 a 99% da variação na composição química do corpo estava associada a diferenças de peso de bovinos com tamanhos à maturidade semelhantes. Segundo o NRC (1996), se um animal é alimentado com dieta contendo energia adequada, a porcentagem de proteína diminui e a de gordura aumenta no corpo vazio, à medida que seu peso se aproxima do peso à maturidade, sendo a maturidade química alcançada quando o ganho de peso possui pouca proteína adicional. Desta forma, em animais em crescimento, a porcentagem de tecido muscular varia de acordo com o peso animal, conseqüentemente, a excreção de creatinina em mg/kg de peso pode ser alterada. Animais adultos possuem menor variação na composição corporal e portanto a excreção de creatinina em função do peso vivo torna-se menos variável, então, em vacas, a utilização de um índice fixo de excreção diária de creatinina, em relação ao peso, parece factível.

Chen et al. (1992), avaliando o efeito do fornecimento da dieta uma ou duas vezes ao dia, coletaram urina de quatro novilhas, durante 24 horas, em

dois períodos, e não verificaram efeito do tratamento sobre a excreção de creatinina que apresentou valor médio de 0,883 mmol/kgPV^{0,75}. Convertendo as unidades utilizadas para expressar a excreção de creatinina para as utilizadas neste trabalho e calculando o peso médio e a média da excreção de creatinina da novilha mais leve (188 kg) e da mais pesada (233 kg) nos dois períodos verificaram-se excreções de 110 e 97 mg/kgPV^{0,75}, respectivamente, demonstrando que a excreção de creatinina em função do peso metabólico foi superior no animal de menor peso. Rennó (2003) estudou o efeito do grupo genético (Holandês, ½ sangue Holandês-Guzerá, ½ sangue Holandês-Gir e Zebú) sobre a excreção de creatinina, expressa em função do peso vivo, em dois experimentos e não detectou diferença significativa entre os grupos em nenhum dos experimentos. No primeiro experimento, o peso inicial dos animais dos grupos genéticos Holandês, ½ sangue Holandês-Guzerá, ½ sangue Holandês-Gir e Zebu foi de 330, 294, 289 e 198 kg e a média de excreção diária de creatinina foi de 26,6; 28,7; 28,7 e 27,0 mg/kgPV, respectivamente. Comparando-se os animais com sangue Holandês, nota-se que a média de excreção de creatinina (mg/kgPV) foi inferior no grupo com média de peso superior (Holandês), sendo o mesmo observado nos dados obtidos no segundo experimento.

Estão apresentadas na Tabela 3 as excreções diárias de creatinina pelos novilhos do Experimento três, em função dos níveis de casca de algodão na dieta. Não foram detectadas diferenças na excreção diária de creatinina em novilhos alimentados com níveis crescentes de casca de algodão em substituição parcial à silagem de capim-elefante, o que já era esperado uma vez que diversos estudos não identificaram influência da dieta sobre a excreção de creatinina (Susmel et al., 1994; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997a; Rennó et al. 2000; Oliveira et al., 2001; Silva, et al. 2001; Rennó, 2003).

Tabela 3 – Médias, equações de regressão (REG) e coeficientes de variação (CV) , obtidas para as excreções diárias de creatinina (EC) em g por dia (g/dia), em mg por quilo de peso vivo (mg/kgPV), em mg por quilo de peso metabólico (mg/PV^{0,75}) e em mmol por quilo de peso metabólico (mmol/PV^{0,75}) em função dos níveis de inclusão de casca de algodão na dieta

Itens	Níveis de casca de algodão				REG	CV (%)
	0	10	20	30		
EC (g/dia)	6,49	6,61	7,26	7,26	$\hat{Y}=6,90$	7,05
EC (mg/kgPV)	27,52	28,06	28,39	27,97	$\hat{Y}=27,99$	3,91
EC (mg/PV ^{0,75})	107,88	109,92	113,46	112,17	$\hat{Y}=110,86$	2,71
EC (mmol/PV ^{0,75})	0,95	0,97	1,00	0,99	$\hat{Y}=0,98$	2,71

A excreção média de creatinina encontrada por Rennó et al. (2000), em quatro experimentos distintos utilizando novilhos com peso médio de 283 kg, foi de 27,36 mg/kgPV, valor um pouco inferior ao encontrado neste experimento, onde o peso médio foi de 259 kg e a excreção apresentou média de 27,99 mg/kgPV. Em outros dois experimentos conduzidos por Rennó (2003), a excreção de creatinina foi de 27,76 e 27,78 mg/kgPV onde o peso médio dos novilhos foi de 301 e 271 kg, respectivamente.

Avaliando diferentes volumosos (palhada, gramínea fresca ou na forma de feno e gramínea fresca mais feno de alfafa) na dieta de bovinos pesando entre 65 e 207 kg, Nsahlai et al. (2000) não observaram efeito das dietas sobre a excreção diária de creatinina que apresentou valor médio de 13,42 mmol por dia (1,52 g/dia).

Na Tabela 4 são apresentadas as excreções de creatinina em diferentes tempos de duração da coleta total de urina. As excreções de creatinina, expressas em mg/kgPV, mg/PV^{0,75}, g/h ou g/24h, estimadas pelas coletas de seis a 18 horas não diferiram das observadas em 24 horas, logo não houve diferença na excreção de creatinina durante os períodos diurno e noturno ou

entre os intervalos entre as ordenhas. Fleming et al. (1991), em estudo conduzido com vacas alimentadas com feno de capim-bermuda, não encontraram diferença significativa para a excreção de creatinina obtida em coletas de seis e 24 horas.

Tabela 4 – Médias, probabilidade (P) e coeficientes de variação (CV) , obtidos para as excreções diárias de creatinina (EC) em g por dia (g/24h), em g por hora (g/h), em mg por quilo de peso vivo (mg/PV), em mg por quilo de peso metabólico (mg/PV^{0,75}) e em mmol por quilo de peso metabólico (mmol/PV^{0,75}), para os diferentes tempos de coleta de urina

Itens	Tempo de coleta (horas)				CV	P
	6	12	18	24		
EC (g/24h)	14,89	14,62	15,17	15,18	12,58	ns
EC (g/h)	0,62	0,61	0,63	0,63	12,58	ns
EC (mg/kgPV)	23,60	23,19	24,06	24,07	10,42	ns
EC (mg/PV ^{0,75})	118,24	116,18	120,51	120,57	10,55	ns
EC (mmol/PV ^{0,75})	1,04	1,03	1,06	1,07	10,55	ns

ns - Não significativo pelo teste de Newman Keuls a 5% de probabilidade.

Valadares et al. (1997b), avaliando a coleta de urina em vacas, utilizando sondas idênticas às utilizadas neste experimento, não verificaram diferenças na excreção de creatinina, expressa em g/h, g/24h, mg/h/kgPV^{0,75} e mg/24h/kgPV^{0,75}, determinada através dos tempos de coleta de 12, 24, 48 e 72 horas e recomendaram a utilização da coleta total de 24 horas para determinar a excreção urinária diária.

Nsahlai et al. (2000) coletaram urina em três períodos distintos (08:00-9:30; 14:00-15:30 e 20:00-21:30 h) durante seis dias de coleta e não

verificaram influência do horário de coleta sobre as concentrações de creatinina e de DP na urina. Valadares et al. (1999) não encontraram diferença na taxa de excreção de creatinina em coleta total no intervalo de 12h (17:00 a 05:00 h) em 24 vacas lactantes, entretanto reportaram que a excreção de creatinina no intervalo de 05:00 a 17:00 h foi 5% inferior, porém tal diferença foi atribuída a possíveis perdas de urina durante a ordenha matinal, quando os cateteres permaneceram vedados por uma hora.

Considerando a excreção de creatinina constante e diretamente proporcional ao peso animal, a coleta total pode ser substituída pela coleta *spot* sendo este método útil para avaliação prática da nutrição protéica de rebanhos desde que, a concentração de DP na amostra *spot* tenha pouca variação ao longo do dia e possa estimar a excreção diária total de DP satisfatoriamente. Chen et al. (1992) avaliaram a variação da concentração de creatinina e DP no soro e na urina de novilhas. Os autores utilizaram quatro novilhas, com peso médio de 204 kg, alimentadas uma ou duas vezes ao dia em quantidade equivalente a 90% do consumo voluntário, para avaliarem cinco horários de coleta (08:00-12:00, 12:00-16:00, 16:00-20:00, 20:00-24:00, 24:00-08:00 h). Foram detectadas variações nas concentrações urinárias de creatinina e DP ao longo do dia, porém as variações da concentração de creatinina foram similares às variações da concentração dos DP e devidas à diferença no volume de urina excretado naquele intervalo. Desta forma, uma mudança no volume urinário devido ao consumo de água por exemplo, pode alterar a concentração sem alterar a excreção diária de creatinina e DP e a relação DP:creatinina. Segundo os autores, a relação DP:creatinina é pouco afetada por variações diurnas e portanto a coleta *spot* pode ser utilizada para estimar a produção microbiana no rúmen. Em pesquisa realizada com 16 ovelhas alimentadas à vontade, Chen et al. (1995) reportaram que a relação DP:creatinina em amostras *spot* não apresentou diferença significativa, quando obtida em diferentes tempos de coleta (amostragens horárias durante dois dias consecutivos) e foi linearmente correlacionada com a excreção diária de DP ($r^2=0,92$), indicando constância da concentração urinária tanto de creatinina quanto de DP ao longo do dia, o que torna possível a utilização da amostra *spot* para estimar a excreção diária de DP.

A excreção de creatinina foi diferente para as diversas categorias estudadas no presente trabalho. Vacas lactantes excretaram praticamente a mesma quantidade de creatinina (24,04 e 24,07 mg/kgPV) nos dois experimentos, independentemente da produção de leite, do peso vivo, do estágio da lactação e da dieta consumida. Já as novilhas apresentaram excreção superior à das vacas e variável para os diferentes estádios de desenvolvimento, variando de 26,43 a 30,33 mg/kgPV, onde o peso médio dos tratamentos variou de 532 a 118 kg. Os novilhos apresentaram peso médio de 259 kg e excreção de creatinina de 27,99 mg/kgPV, dentro da faixa de variação observada nas novilhas.

Conclusões

A excreção diária de creatinina em vacas foi, em média, 24,05 mg/kgPV, não sendo afetada pela produção de leite.

A excreção de creatinina, em relação ao peso vivo, em novilhas de origem leiteira em crescimento foi variável, logo recomenda-se a utilização da equação abaixo para estimar a excreção diária de cada animal em função do peso vivo em kg:

$$EC \text{ (mg/kgPV/dia)} = 32,27 - 0,01093 \cdot PV.$$

A excreção diária de creatinina não foi influenciada pelo tipo de volumoso na dieta de novilhos, apresentando valor médio de 27,99 mg/kgPV.

A excreção de creatinina foi pouco variável ao longo do dia, o que permite sua utilização como indicador metabólico para estimar a excreção de compostos urinários a partir de uma única amostra coletada ao longo do dia (*spot*).

A estimativa da excreção de creatinina deve levar em consideração a classe animal.

Referências Bibliográficas

- CHEN, X.B.; GRUBIC, G.; ORSKOV, E.R. et al. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. **Animal Production**, v.55, p.185-191, 1992.
- CHEN, X.B.; MEJIA, A.T.; KYLE, D.J. et al. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.125, p.137-143, 1995.
- FLEMING, S.A., HUNT, E.L., RIVIERE, J.E. et al. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.1, p.1-21, 1991.
- GONDA, H.L., EMANUELSON, M., MURPHY, M. The effect of roughage to concentrate ratio in the diet on nitrogen and purine metabolism in dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, v.64, p.27-42, 1996.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1013p.
- KOREN, A. Creatinine – urine. Medical encyclopedia. 2000. www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003610.htm. (18/11/2003).
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L. et al. Consumo e desempenho de novilhos de origem leiteira em confinamento alimentados com diferentes níveis de casca de algodão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., Santa Maria. **Anais...**Santa Maria:SBZ, 2003. (CD-ROM). Nutrição de Ruminantes.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.:National Academy, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7. ed.National Academic Press. Washinton, D.C.: 2001. 381p.
- NSAHLAI, I.V.; OSUJI, P.O.; UMUNNA, N.N. Effect of form and of quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary *spot* samples, daily microbial N supply and predictability of intake. **Animal Feed Science and Technology**, v.85, p.223-238, 2000.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo

- diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- PIMPA, O.; LIANG, J.B.; JELAN, Z.A. et al. Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah-Kelantan cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p.203-214, 2001.
- RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois de proteína**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 252p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1235-1243, 2000.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-265, 1994.
- VAGNONI, D.B.; BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. et al. Excretion of purine derivatives by holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997a.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997b.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 1998. 150p. (Manual do usuário).

Consumo, Digestibilidade, Excreção de Uréia e Derivados de Purinas em Vacas de Diferentes Níveis de Produção de Leite

Resumo – Objetivou-se avaliar o efeito do nível de produção sobre o consumo e a digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT), a produção de proteína microbiana, a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen e a excreção de compostos nitrogenados na urina. Avaliaram-se as concentrações de N uréico no soro (NUS) e no leite (NUL), de animais de diferentes níveis de produção de leite. Foram comparadas as metodologias de coletas de urina *spot* e total e o uso de duas equações para quantificação do fluxo de N microbiano. Foram utilizadas 15 vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, alocadas em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos em função da produção de leite (5,88; 18,54 e 32,6 kg de leite/dia, respectivamente, para os tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA). A dieta foi constituída de silagem de milho à vontade e um kg de concentrado para cada três kg da média de leite produzido. Os consumos de todos os nutrientes, exceto a FDNcp, foram maiores nos animais mais produtivos. As digestibilidades da MS, MO e o teor de NDT não diferiram entre os tratamentos, enquanto as digestibilidades da PB e da FDNcp, foram influenciadas pelo nível de produção, sendo maior e menor, respectivamente, no tratamento ALTA. A

presença de cinzas e proteína na FDN subestimou a digestibilidade da FDN e superestimou a dos CNF. Os teores de NUS e NUL e a excreção de compostos nitrogenados na urina foram altamente correlacionados e superiores nos animais mais produtivos, indicando que a concentração ótima varia com o nível de produção de leite. A produção microbiana não diferiu entre as metodologias de coleta *spot* e de coleta total de urina, nem pela utilização de diferentes equações, sendo inferior nos animais menos produtivos. Assim, a coleta de urina *spot* pode ser utilizada para estimar a excreção de compostos nitrogenados na urina e a produção de proteína microbiana no rúmen.

Palavras-chave: FDNcp, N uréico no leite, N uréico no soro, Proteína microbiana, coleta *spot*.

Intake, Digestibility, and Urea and Purine Derivatives Excretion in Cows with Different Milk Production Levels

Abstract – It was aimed to evaluate the effect of the milk production level on intake and digestibility of dry matter (DM), organic matter (OM), ether extract (EE), crude protein (CP), neutral detergent fiber corrected to ashes and protein (NDFap) and non-fiber carbohydrates (NFC), on intake of total digestible nutrients (TDN), on microbial protein synthesis, on rumen ammonia concentration and on urinary nitrogen compounds excretion. It was evaluated the serum urea nitrogen and milk urea nitrogen concentrations of cows with different milk production levels. The spot urine sampling and the urine total collection methodologies was compared to quantify de microbial N flow. 15 Holstein cows, pure and crossbred, were allocated in completely randomized design, with three treatments in function of the milk production level (5.88, 18.54 and 32.6 kg of milk/day to treatments HIGH, MEDIUM and LOW, respectively). The diet was constituted of corn silage *ad libitum* and one kg of concentrate to each three kg of average milk produced. The intakes of all nutrients, except NDFap, were increased by milk production. The DM and OM digestibilities and TDN content didn't differ among the treatments, while the CP and NDFap digestibilities were influenced by the production levels, being larger and smaller in the treatment HIGH, respectively. The presence of ashes and protein in NDF underestimated the digestibilities of NDF and overestimated the digestibilities of NFC. The MUN and SUN concentrations and the urinary N excretion were

highly correlated and superiors in the most productive animals, indicating that the optimum concentration varies with the milk production level. The microbial synthesis didn't differ among the urinary spot sampling and total collection methodologies, and was smaller in the less productive cows. So, the urinary spot sampling can be used to estimate the urinary N compounds and the microbial protein synthesis in the rumen.

Key-words: microbial protein, milk urea nitrogen, NDFap, serum urea nitrogen, spot sampling.

Introdução

A alta correlação existente entre a produção animal e a ingestão de alimentos deve-se ao fato deste último ser o principal determinante do ingresso de nutrientes necessários para o atendimento dos requerimentos de manutenção e produção dos animais. A regulação da ingestão envolve sinais de fome e saciedade que operam através de vários mecanismos hormonais e neurais para controlar a ingestão voluntária que não são completamente compreendidos. A acurácia da predição do consumo de matéria seca é fundamental na formulação de dietas para o correto atendimento das exigências nutricionais.

O crescimento microbiano no rúmen é influenciado pela interação de fatores químicos, fisiológicos e nutricionais. A disponibilidade energética é apontada como fator limitante para o crescimento microbiano. Esta disponibilidade de energia, por sua vez, depende da composição da dieta e da extensão da fermentação ruminal da mesma (Hoover & Stokes, 1991).

Os métodos utilizados para medir a quantidade de compostos nitrogenados microbianos baseiam-se em indicadores microbianos internos, como bases purinas e o ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA), e externos como o ^{35}S e o ^{15}N (Broderick & Merchen, 1992). Entretanto, estes métodos requerem a utilização de animais cirurgicamente preparados e a determinação do fluxo de MS no abomaso, sendo recentemente desenvolvidas metodologias baseadas em marcadores metabólicos da síntese microbiana.

O uso dos derivados de purina (DP) para estimar a síntese microbiana no rúmen foi primeiramente proposto por Blaxter & Martin em 1962, citados por Fujihara et al. (1987). Este método assume que o fluxo duodenal de ácido nucléico é essencialmente de origem microbiana e, após digestão intestinal das bases purinas (adenina e guanina), elas são catabolizadas e excretadas proporcionalmente à quantidade absorvida. Os DP excretados podem ser de origem endógena, proveniente do catabolismo dos ácidos nucléicos do animal, ou derivados da degradação dos DP absorvidos (Chen & Gomes, 1992). Assim

é necessário estimar a produção endógena de DP para determinar a excreção dos DP originados do metabolismo das bases purinas microbianas absorvidas.

A alantoína é o DP mais abundante, sendo o ácido úrico, xantina e hipoxantina os demais componentes denominados coletivamente como DP. Em bovinos, devido à alta atividade da enzima xantina oxidase, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico, as excreções de alantoína e ácido úrico constituem cerca de 98% dos derivados urinários de purinas, portanto a contribuição da xantina e hipoxantina são irrisórias para determinação da excreção total dos DP (Rennó et al., 2000). Em vacas lactantes, a proporção DP absorvidos no intestino delgado:DP recuperados na urina pode ser alterada se a excreção de DP pela glândula mamária for modificada pela produção de leite (Gonzalez-Ronquillo et al., 2003).

O método baseado na excreção de DP requer coleta total de urina. O volume urinário tem sido obtido através de coletas com sondas por períodos de 24 a 120h, porém pesquisas têm sido realizadas para estimar a excreção diária de urina a partir de uma amostra coletada ao longo do dia (coleta *spot*), possibilitando a utilização deste método em situações a campo e facilitando as coletas em experimentos (Valadares et al., 1999; Oliveira et al., 2001).

Estimando-se a excreção diária de creatinina a partir do peso vivo, o volume urinário pode ser calculado pela concentração de creatinina na amostra *spot*. Oliveira et al. (2001) não observaram diferenças significativas entre os volumes de urina obtidos de coleta total durante 24 horas e os estimados utilizando a concentração de creatinina na urina *spot*. Entretanto Rennó et al. (2000), trabalhando com novilhos de diferentes grupos genéticos, encontraram diferenças entre o volume urinário da coleta total e o estimado pela amostra *spot*, porém não verificaram diferença na excreção de derivados de purinas entre as duas metodologias, o que indica que as diferenças no volume de urina não alteram a excreção diária de derivados de purinas.

As estimativas dos requerimentos de proteína dietética para ruminantes são complexas, em função das alterações a que estas são submetidas no rúmen e, portanto, devem considerar além das exigências de proteína para o animal, o requerimento de N e de energia para a síntese de proteína microbiana. Os teores de nitrogênio uréico no soro (NUS) e nitrogênio uréico no

leite (NUL) têm sido utilizados com a finalidade de fornecer informações adicionais sobre o *status* da nutrição protéica de ruminantes, envolvendo a resposta metabólica destes a determinada dieta. Desta forma podem-se evitar as perdas econômicas advindas do fornecimento inadequado de proteína na dieta (devido aos elevados custos destes suplementos) e os possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais. A concentração de uréia pode ser avaliada no soro (NUS) ou no plasma sanguíneo (NUP), equilibrando-se facilmente entre o soro e o leite. Quando NUL ou NUS excedem 19-20 mg/dL, a taxa de concepção pode ser reduzida em aproximadamente 20% (Butler et al., 1995). Broderick (1995) sugeriu que uma variação de NUL de 12 a 17 mg/dL indica um ótimo balanceamento de proteína degradada e energia fermentada no rúmen. Outros estudos propõem que os valores ideais devam se situar entre as faixas de 12 e 16 mg/dL (Hutjens, 1996; Jonker et al., 1998), 10 e 14 mg/dL (Moore & Varga, 1996; Ferguson, 2001) ou 10 e 16 mg/dL (Jonker et al., 1998).

Considerando que o incorreto balanceamento protéico na dieta resultará em aumentos na concentração de uréia sérica e na excreção urinária de compostos nitrogenados, esforços têm sido feitos para estimar a excreção urinária de nitrogênio (NU) a partir do NUL assim como para determinar a produção microbiana através da coleta *spot* de urina.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado objetivando-se avaliar:

- O efeito do nível de produção de leite sobre o consumo e a digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), e sobre o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT);
- O efeito do nível de produção sobre as concentrações de nitrogênio uréico no soro e no leite (NUS e NUL);
- O efeito do nível de produção sobre a excreção de N, uréia e derivados de purinas na urina;

- A produção de proteína microbiana obtida através da coleta *spot* ou da coleta total de urina;
- A relação entre as concentrações de amônia ruminal e NUS, a relação entre a excreção de N na urina e NUS ou NUL e a relação entre NUS e NUL.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG, sendo a fase de campo realizada durante o mês de abril de 2003.

A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas de posição 20°45'20" de latitude sul e 45°52'40" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 657m. A temperatura média e a precipitação pluviométrica observadas nos anos de 2000 e 2001 foram de, respectivamente, 20°C e 1217,9 mm e 20,7°C e 1148 mm (Universidade Federal de Viçosa, 2002).

Utilizaram-se 15 vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, em sistema de confinamento total tipo *Tie Stall*, em baias individuais, providas de cocho e bebedouro. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos em função do nível de produção de leite e cinco repetições:

Tratamento BAIXA – cinco vacas com produção de leite média de 5,88 kg/dia (entre quatro e sete kg/dia);

Tratamento MÉDIA – cinco vacas com produção de leite média de 18,54 kg/dia (entre 14 e 25 kg/dia);

Tratamento ALTA – cinco vacas com produção de leite média de 32,60 kg/dia (entre 28 e 38 kg/dia).

As vacas dos tratamentos BAIXA, MÉDIA e ALTA, estavam em média com 45, 33 e 17 semanas de lactação e pesavam em média 670, 578 e 584 kg, respectivamente.

Os animais já estavam adaptados às dietas. A alimentação, na forma de mistura completa, foi equivalente à do rebanho da UEPE-GL-UFV, constituída de silagem de milho à vontade e um kg de concentrado para cada três kg da média diária de leite produzido na semana anterior. A alimentação foi fornecida diariamente às 7:00h e 16:00h, permitindo sobras de no máximo 5% que foram retiradas pela manhã, quantificadas, amostradas e armazenadas, em saco plástico, a -15°C. As vacas foram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia, registrando-se a produção de leite.

O período experimental teve duração de nove dias.

As proporções dos ingredientes no concentrado estão apresentadas na Tabela 1, a composição química-bromatológica dos ingredientes utilizados no concentrado estão na Tabela 2 e a composição média dos alimentos utilizados estão na Tabela 3.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes nos concentrados, na base da matéria natural

Ingredientes	%
Fubá de milho	27,20
Sorgo moído	20,00
Farelo de trigo	5,00
Farelo de algodão	5,00
Farelo de soja	37,80
Uréia	1,00
Sulfato de amônia	0,10
Sal	0,84
Fosfato bicálcico	1,70
Calcário	1,00
Premix mineral ¹	0,36

¹ – Composição: cloreto de potássio, 83,15%; sulfato de cobre, 2,77%; sulfato de cobalto, 0,17%; sulfato de zinco, 13,86%; selenito de sódio, 0,05%.

Tabela 2 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) dos ingredientes utilizados no concentrado, com base na matéria seca

Itens	Ingredientes				
	Fubá de milho	Sorgo moído	Farelo de Trigo	Farelo de Algodão	Farelo de soja
MS	88,65	88,64	87,78	90,05	88,19
MO	98,58	98,78	94,12	94,20	92,60
PB	8,53	11,03	16,91	39,65	49,03
PDR ¹	61,96	50,18	86,72	81,44	75,57
NIDN ¹	7,73	26,79 ²	19,55	3,95	5,75 ²
NIDA ¹	1,90	23,66 ²	2,86	3,12	2,77 ²
EE	3,60	3,12	3,13	0,43	2,62
FDN	9,21	13,79	44,77	33,75	10,51
FDNcp	8,47	11,80	39,84	31,05	9,23
CNF	77,24	70,84	29,31	20,37	30,43
CNFcp	77,98	72,83	34,24	23,06	31,71
FDA	3,05	5,24	14,18	23,69	8,25
Lignina	0,54	1,13	4,20	4,56	1,09
FDAi	0,62	1,26	7,57	16,63	0,17

¹ - % do N total;

² -Adaptado de Valadares Filho et al. (2002).

Tabela 3 – Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) dos alimentos, com base na matéria seca

Itens	Alimentos	
	Silagem de milho	Concentrado
MS (%)	25,34	89,02
MO	94,95	92,03
PB	6,67	28,69
PDR ¹	75,04	63,87
NIDN ¹	16,07	10,81
NIDA ¹	9,20	6,59
EE	3,70	2,77
FDN	56,57	13,16
FDNcp	53,19	11,70
CNF	27,91	49,21
CNFcp	31,39	50,67
FDA	35,60	6,89
Lignina	5,08	1,22
FDAi	18,87	1,70

¹ - % do N total.

Nos dias cinco e sete foram coletadas amostras de fezes diretamente do reto, às 18:00 e 6:00h respectivamente. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, a 60°C por 72 horas, moídas em moinho de facas com peneira com crivos de um mm e então elaborou-se uma amostra composta por animal, com base no peso seco de cada subamostra.

A fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) foi utilizada para se estimar a produção de matéria seca fecal, conforme proposto por Cochran et al. (1986). Entretanto, utilizou-se incubação ruminal em sacos de ankom (*filter bags* F57), por 144 horas, em vez da digestibilidade *in vitro*, sugerida no protocolo original. Foram incubadas amostras de sobras, fezes e dos ingredientes utilizados nas dietas. O material remanescente da incubação foi

submetido à fervura em detergente ácido por uma hora, sendo o resíduo considerado FDAi.

Na ordenha da tarde do quinto e na da manhã do sexto dia do período experimental foram coletadas amostras de leite, sendo elaborada uma amostra composta, proporcional à produção em cada ordenha, para fins de análise dos teores de gordura, segundo Pregnotatto & Pregnotatto, (1985). A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura, conforme a equação: produção de leite corrigida (PLC) = $(0,432 + 0,1625 \times \% \text{ de gordura do leite}) \times \text{produção de leite}$ (Sklan et al., 1992). Uma alíquota de 10 mL de leite foi diluída com cinco mL de ácido tricloroacético a 25%, filtrada em papel filtro e congelada para posteriores análises de uréia e alantoína no leite desproteínizado.

Alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram obtidas de todas as vacas no sexto dia do período experimental, aproximadamente quatro horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram retiradas e diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e a precipitação de ácido úrico, e armazenadas a -15°C para posteriores análises de alantoína e ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, uréia e creatinina. Concomitantemente foram obtidas amostras de sangue por punção da veia coccígea utilizando-se tubo de ensaio com gel separador e acelerador de coagulação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos para a obtenção do soro que foi armazenado em congelador para posteriores análises de uréia.

No oitavo dia foi realizada coleta de urina de cada animal, durante 24 horas, utilizando-se cateter de Folley nº26, duas vias, com balão de 50 mL, que foi introduzido via uretra até a bexiga. Na extremidade externa do cateter foi acoplada mangueira de polietileno que conduziu a urina até recipientes plásticos, contendo 500 mL de ácido sulfúrico a 20%. Ao término das 24 horas de coleta, a urina foi pesada e homogeneizada e obtiveram-se duas amostras (pura e diluída) por animal conforme descrito para a amostra *spot*.

Amostras de conteúdo ruminal foram coletadas quatro horas após a alimentação matinal no nono dia, utilizando-se mangueira de borracha

introduzida pelo esôfago, com uma das extremidades acoplada a kitassato e bomba de vácuo, para determinação do pH e da concentração de amônia do líquido ruminal.

O processamento das amostras de alimentos, sobras e fezes e as análises de MS, cinzas, nitrogênio total, NIDA, NIDN, EE e FDA foram feitas segundo Silva & Queiroz (2002). A FDN foi determinada pela técnica da autoclave, segundo Rennó et al. (2002), quantificando-se os teores de PB e cinzas da FDN conforme Silva & Queiroz (2002), para determinação da FDN corrigida (FDN_{cp}). Os CNF_{cp} foram calculados por intermédio da equação (Weiss, 1999): $CNF_{cp} = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas + \%FDN_{cp})$; os CNF foram calculados pela mesma equação, porém utilizou-se a FDN sem correção. Devido à presença de uréia no concentrado, os CNF deste foram calculados como proposto por Hall (2000): $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ derivada da uréia} + \% \text{ de uréia}) + \%FDN_{cp} + \%EE + \%cinzas]$.

As concentrações de N-NH₃ nas amostras do líquido ruminal foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio 2N, conforme técnica de Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

A determinação da uréia na urina, soro e no leite desproteínizado foi realizada segundo o método diacetil modificado (kits comerciais).

A creatinina foi determinada nas amostras de urina *spot* utilizando-se kits comerciais (Labtest), pelo método de ponto final, com utilização de picrato e acidificante. A excreção diária de creatinina foi estimada conforme proposto no capítulo anterior (24,05 mg/kgPV/dia). A concentração de creatinina na amostra *spot* foi utilizada para estimar o volume urinário e assim estimar a excreção dos demais compostos urinários para comparação dos valores obtidos na amostra *spot* com os observados na coleta total.

As análises de alantoína na urina e no leite desproteínizado e de ácido úrico na urina foram feitas pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992).

A excreção total de DP foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia.

As purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia) por intermédio da equação :

$$DP = 0,84 * Pabs + 0,236 * PV^{0,75}$$

em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e $0,236PV^{0,75}$, a excreção endógena de derivados de purina (Orellana Boero et al., 2001). Também foram avaliadas as purinas absorvidas considerando a excreção endógena de $0,512PV^{0,75}$ e recuperação de 0,70, encontradas por Gonzalez-Ronquillo et al. (2003).

A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia), foi calculada em função das purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação (Chen & Gomes, 1992):

$$Nmic = (70 * Pabs) / (0,83 * 0,134 * 1000)$$

onde 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol), 0,134 a relação N purina: N total nas bactérias (Valadares et al. 1999) e 0,83 a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

Ao término do experimento, foi realizado um ensaio de degradabilidade ruminal, utilizando duas vacas fistuladas no rúmen, manejadas em conjunto com as demais vacas do rebanho da UFV. Utilizaram-se sacos de náilon medindo 10x20 cm, com porosidade de 50 micras, onde foram adicionadas 5g de amostra dos alimentos constituintes das rações (silagem de milho, fubá de milho, sorgo moído e farelos de trigo, de algodão e de soja) que foram previamente pré-secos em estufa a 60°C e moídos utilizando-se peneira com crivos de dois mm. Os tempos de incubação utilizados foram de zero, duas, quatro, oito, 24, 48 e 72 horas, exceto para a silagem de milho, em que os tempos de incubação foram de zero, três, seis, 12, 24, 48, 72, 96 e 144 horas. Os dados foram processados e analisados da mesma forma descrita no capítulo um, sendo analisada a degradabilidade da MS de todos os alimentos, a degradabilidade da FDN da silagem de milho e a degradabilidade da PB do fubá de milho, sorgo moído, farelo de trigo, de algodão e de soja.

Os teores de proteína degradável no rúmen (PDR) foram calculados conforme recomendações do NRC (2001) a partir dos coeficientes obtidos no ensaio de degradabilidade da proteína, através de seguinte equação:

$$PDR = a + b * \left(\frac{Kd}{Kd + kp} \right)$$

em que kp, é a taxa de passagem da digesta ruminal, calculada para cada animal, pelas equações propostas pelo NRC (2001), que foram de 6,06; 5,32 e 4,23%/h, respectivamente, para os tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA. Os coeficientes para cálculo da degradabilidade da PB da silagem de milho utilizados foram de 54,72%; 36% e 6,68%/h, respectivamente, para a fração a, b e Kd (Valadares Filho et al., 2002).

Os resultados foram avaliados por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), UFV (1998). Os critérios utilizados para escolha do modelo foram o coeficiente de determinação (r^2) e a significância observada por meio do teste F, a 5% de probabilidade. Foi utilizado o teste t a 5% de probabilidade para comparação das metodologias de coleta de urina e das equações utilizadas para o cálculo das purinas absorvidas.

Resultados e Discussão

Estão apresentados na Tabela 4 os consumos médios dos nutrientes, as produções de leite e os coeficientes de variação, para os diferentes tratamentos. A relação volumoso: concentrado nas dietas fornecidas foi de 55,87, 68,03 e 84,7, respectivamente, para vacas dos tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA. O consumo de todos os nutrientes, exceto de FDNcp, foi altamente influenciado pela produção de leite. Sob a ótica das teorias de regulação de consumo (NRC, 2001), os animais consomem alimentos para atender os requerimentos de energia, assim o consumo é controlado pela produção de leite. Isto se torna evidente em experimentos com somatotropina bovina (BST) onde o aumento na produção promove um aumento no consumo de MS, evidenciando que o consumo acompanha as exigências nutricionais dos animais. As equações de predição de consumo de MS propostas pelo NRC (2001) superestimaram em 17, 16 e 40% o consumo de MS pelos animais dos

tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA, respectivamente, (22,1; 18,2 e 15,1 kgMS/dia).

Tabela 4 – Médias e coeficientes de variação (CV), obtidas para as produções de leite (PL), o teor de gordura do leite (%G), produções de leite corrigidas para 3,5% de gordura (PLG), os consumos diários de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNFcp), nutrientes digestíveis totais (NDT), e os consumos diários expressos em porcentagem do peso vivo de MS e de FDNcp, para os diferentes níveis de produção de leite

Itens	Produção de leite			CV (%)
	ALTA	MÉDIA	BAIXA	
PL	32,60 ^a	18,54 ^b	5,88 ^c	19,81
%G	3,80	3,88	4,40	9,37
PLG	34,21 ^a	19,78 ^b	6,80 ^c	21,14
Consumos (kg/dia)				
MS	18,91 ^a	15,61 ^b	10,93 ^c	12,20
MO	17,68 ^a	14,65 ^b	10,33 ^c	12,26
PB	3,27 ^a	2,26 ^b	1,14 ^c	15,65
PDR	2,23 ^a	1,61 ^b	0,85 ^c	14,56
EE	0,66 ^a	0,55 ^b	0,41 ^c	11,36
FDNcp	6,20	5,87	4,96	13,20
CNFcp	7,72 ^a	6,07 ^b	3,85 ^c	12,85
NDT	12,09 ^a	9,54 ^b	6,85 ^c	13,92
Consumos (%PV)				
MS	3,24 ^a	2,70 ^b	1,64 ^c	10,56
FDNcp	1,06 ^a	1,02 ^a	0,75 ^b	13,70

a, b, c — Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Newman Keuls a 5% de probabilidade.

Na Tabela 5 estão apresentadas as médias dos coeficientes de digestibilidade aparente total dos nutrientes e o teor de NDT das dietas. Apenas as digestibilidades da PB, EE e FDNcp foram significativamente diferentes entre os tratamentos.

Tabela 5 – Médias e coeficientes de variação (CV) obtidos para os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp) e nutrientes digestíveis totais (NDT), para os diferentes níveis de produção de leite

Itens	Produção de leite			CV (%)
	ALTA	MÉDIA	BAIXA	
MS	61,43	58,22	59,29	6,60
MO	63,44	60,69	61,89	6,62
PB	71,18 ^a	65,68 ^b	58,52 ^c	5,93
EE	84,09 ^a	78,80 ^b	87,49 ^a	4,42
FDNcp	42,38 ^b	51,44 ^a	53,37 ^a	11,72
CNFcp	75,72	66,72	71,38	8,75
NDT ¹	63,86	61,05	62,83	6,14

a, b, c - Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Newman Keuls a 5% de probabilidade;

¹ - % da MS da dieta.

Embora os animais tenham consumido diferentes proporções de volumoso e concentrado, devido ao fornecimento de concentrado de acordo com a produção de leite, não foram observadas diferenças nas digestibilidades da MS, MO, e CNF e na porcentagem de NDT das dietas. Isto deve estar associado ao maior consumo, que pode ter ocasionado maior taxa de passagem e portanto reduziu o tempo de permanência dos alimentos no trato gastrointestinal, reduzindo a digestibilidade da dieta, já que a digestão é resultante da interação entre as taxas de degradação e de permanência da digesta nos locais de digestão (Van Soest, 1994). A menor digestibilidade da FDN observada no tratamento ALTA deve ter sido consequência do aumento

da proporção de concentrado na dieta e do menor tempo de permanência da digesta no ambiente ruminal em função do maior consumo, visto que a degradação da FDN é lenta e portanto altamente influenciada pelo tempo de contato com as enzimas bacterianas. Ítavo et al. (2002) reportaram que a digestibilidade total e ruminal da FDN apresentou redução linear com o aumento do nível de concentrado na dieta de novilhos. Os autores atribuíram tal diferença à competição entre bactérias amilolíticas e fibrolíticas, pois os microrganismos amilolíticos desenvolvem-se mais rapidamente e apresentam uma vantagem competitiva quanto ao uso do nitrogênio, limitando a disponibilidade de nitrogênio para os microrganismos celulolíticos. Quantidades de carboidratos rapidamente fermentáveis no rúmen fortaleceriam esta competição. O pH ruminal pode afetar o desenvolvimento de bactérias fibrolíticas em dietas com maior nível de concentrado e neste experimento o pH observado foi inferior nos animais mais produtivos, entretanto foi superior a 6,0. Segundo Coelho da Silva & Leão (1979), valores inferiores a 6,0 podem acarretar em inibição das bactérias fibrolíticas.

A digestibilidade da PB foi superior na dieta das vacas mais produtivas. Tal diferença pode ser atribuída ao maior consumo de PB por estes animais, pois, segundo Cameron et al. (1991), a maior ingestão de N implica em progressiva diminuição da proporção de N endógeno nos compostos nitrogenados fecais, aumentando a digestibilidade aparente da PB.

Na Tabela 6 são apresentadas as comparações entre as médias das digestibilidades aparentes totais da FDN e dos CNF, corrigidas ou não para cinzas e proteína, em cada tratamento. Verificou-se que a correção da FDN aumentou, em média, 8,04% a digestibilidade da FDN, logo a falta de correção da FDN para cinzas e proteína subestima a digestibilidade da FDN. A falta de correção da FDN superestimou em 7,94% a digestibilidade dos CNF. Dessa forma, sugere-se que as digestibilidades da FDN e dos CNF sem correção sejam multiplicadas por 1,08 e 0,92, respectivamente. Ao realizar o mesmo tipo de comparação, Rennó et al. (2002) verificaram que a presença de cinzas e proteína na FDN subestimou a digestibilidade da FDN e superestimou a dos CNF, e sugeriram que a digestibilidade da FDN seja multiplicada por 1,042 e a dos CNF por 0,96. Magalhães (2003) não encontrou diferença entre a

digestibilidade da FDN e da FDNcp, mas verificou diferença significativa entre CNF e CNFcp, sugerindo a multiplicação da digestibilidade dos CNF por 0,87 para a correção. Vale ressaltar que independentemente do uso da FDN e CNF corrigidos ou não, o NDT das dietas permanece inalterado.

Tabela 6 – Médias, diferenças e coeficientes de variação (CV) das digestibilidades da fibra em detergente neutro e dos carboidratos não-fibrosos corrigidos (FDNcp e CNFcp) ou não (FDN e CNF) para cinzas e proteína, para cada tratamento

Itens	Produção de leite			CV (%)
	ALTA	MÉDIA	BAIXA	
FDN	39,33 ^A	47,27 ^A	49,63 ^A	11,98
FDNcp	42,38 ^B	51,44 ^B	53,37 ^B	11,72
Diferença	-7,76%	-8,82%	-7,53%	
CNF	80,80 ^B	72,60 ^B	78,84 ^B	8,74
CNFcp	75,72 ^A	66,72 ^A	71,38 ^A	8,75
Diferença	6,29%	8,11%	9,46%	

^{A, B} – Médias nas colunas, para FDN e CNF, seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t a 5% de probabilidade.

Na Tabela 7 encontram-se as estimativas da fração solúvel (a), da fração potencialmente degradável (b) e a taxa de degradação da fração b (Kd) das equações ajustadas para a degradabilidade da MS e da PB e a estimativa da fração potencialmente degradável (b), da fração indigestível (i), do tempo de latência ou *lag time* (L) e a taxa de degradação da fração b (Kd) das equações ajustadas para a degradabilidade da FDN. As maiores taxas de degradação ruminal da fração potencialmente digestível (b) da MS e da PB foram, em ordem decrescente, do farelo de trigo, farelo de soja, farelo de algodão, fubá, sorgo e silagem de milho. Alguns dos valores são próximos daqueles reportados por Valadares Filho et al. (2002) que registram média das frações a e b e do Kd da MS, de 18,48; 78,15 e 5,08% para o fubá; 32,03; 65,67 e 5% para o sorgo; 42,41; 40,64 e 12,6% para o farelo de trigo; 22,03; 51,32 e 6,78% para o farelo de algodão; 29,02; 67,49 e 8,95% para o farelo de soja e 28,06; 49,18 e 3,07% para a silagem de milho, respectivamente.

Nesta mesma publicação, as médias das frações a e b e do Kd da PB foram de 21,93; 74,21 e 4,03% para o fubá; 29,13; 60,8 e 5% para o sorgo; 40,89; 51,38 e 15,22% para o farelo de trigo; 30,44; 57,39 e 7,46% para o farelo de algodão e 18,21; 78,59 e 9,9% para o farelo de soja.

Tabela 7 – Estimativa dos coeficientes a (%), b (%), Kd (%/hora) das equações ajustadas para a degradabilidade da MS e PB, estimativa dos coeficientes b (%), Kd (%/hora), i (%) e L (horas) das equações ajustadas para a degradabilidade da FDN e respectivos coeficientes de determinação (R^2) para os alimentos utilizados

Coeficientes	Alimentos					
	Silagem de milho	Fubá de milho	Sorgo moído	Farelo de trigo	Farelo de algodão	Farelo de soja
Degradabilidade da MS						
a	36,42	18,32	18,85	44,61	25,34	30,75
b	46,85	80,00	80,00	34,22	52,82	68,63
Kd	2,01	5,44	4,35	14,16	9,46	11,21
R^2	0,99	0,99	0,99	0,99	0,95	0,99
Degradabilidade da PB						
a	-	25,00	20,45	50,00	34,13	19,37
b	-	74,98	78,00	45,29	62,61	80,09
Kd	-	5,00	3,16	22,22	16,01	12,16
R^2	-	0,98	0,98	0,99	0,97	0,99
Degradabilidade da FDN						
b	59,92	-	-	-	-	-
Kd	2,25	-	-	-	-	-
i	25,85	-	-	-	-	-
L	6,71	-	-	-	-	-
R^2	0,99	-	-	-	-	-

As excreções diárias de N total e N uréico na urina e as concentrações de N uréico no soro, urina, leite e de N-NH₃ no rúmen, estão apresentadas na

Tabela 8. Foram observadas maiores concentrações e excreções de N uréico no soro e no leite nos animais de maior produção, evidenciando a correlação entre estes parâmetros. Foi observado um teor médio de 17,30, 14,48 e 10,43% de PB na matéria seca ingerida pelos animais dos tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA, respectivamente. Valadares et al., (1997) e Valadares et al., (1999) demonstraram que a concentração sérica de uréia está positivamente relacionada à ingestão de N.

Tabela 8 – Médias e coeficientes de variação (CV), obtidas para as concentrações de N amoniacal no rúmen (N-NH₃), de nitrogênio uréico no soro (NUS) e no leite (NUL) e excreções de N total no leite (NL), de nitrogênio uréico no leite (NUL), de N urinário total (NU) e de nitrogênio uréico na urina (NUU) para os diferentes níveis de produção de leite

Itens	Produção de leite			CV (%)
	ALTA	MÉDIA	BAIXA	
Concentrações (mg/dL)				
N-NH ₃	13,34 ^a	10,98 ^a	3,84 ^b	31,55
NUS	20,01 ^a	13,41 ^b	9,04 ^b	24,01
NUL	22,70 ^a	14,16 ^b	10,04 ^b	26,19
Excreções diárias				
NL (g)	15,89 ^a	9,23 ^b	3,35 ^c	
NUL (g)	7,57 ^a	2,72 ^b	0,59 ^b	52,15
NU (g)	194,79 ^a	127,58 ^b	56,77 ^c	30,41
NUU (g)	170,48 ^a	111,52 ^b	38,78 ^c	34,59
NU (mg/kgPV)	333,69 ^a	215,39 ^b	84,74 ^c	25,25
NUU (mg/kgPV)	291,23 ^a	188,86 ^b	58,13 ^c	29,50

a, b, c - Médias, na linha, seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Newman Keuls a 5% de probabilidade.

De acordo com Santos et al. (2001), quanto maior for a degradabilidade da proteína dietética maior será a produção de amônia ruminal e conseqüentemente maiores serão as concentrações de uréia no soro e no leite e as perdas nitrogenadas na urina e no leite. O maior consumo de proteína degradável (Tabela 4) pelos animais mais produtivos implicou em maiores

concentrações de amônia no rúmen, e conseqüentemente, as concentrações de NUS e NUL e as excreções de N uréico e N total na urina e no leite aumentaram.

O balanço de N, obtido por N ingerido menos N excretado no leite, urina e fezes foi de 163, 101 e 46 g/dia, respectivamente, para os tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA. Quando expresso tanto em % do N ingerido quanto em % do N absorvido, o balanço de N foi similar ($P>0,05$) entre os tratamentos, apresentando médias de 28,33 e 43,29%, respectivamente, sugerindo retenções de N similares entre os animais de diferentes níveis de produção.

As altas correlações observadas entre o consumo de proteína degradável no rúmen (CPDR) e de proteína bruta (CPB) com a excreção diária de N na urina permitiram ajustar as seguintes equações de regressão:

$$NU \text{ (g/dia)} = 105,27 \cdot \text{CPDR} \text{ (kg/dia)} - 38,23 \text{ (r}^2=0,90\text{)}$$

$$NU \text{ (g/dia)} = 68,00 \cdot \text{CPB} \text{ (kg/dia)} - 24,92 \text{ (r}^2=0,90\text{)}.$$

Segundo Butler et al. (1995), a variação horária de NUL segue o mesmo padrão de NUS, podendo ser um parâmetro útil para avaliar a utilização da proteína em relação a sua ingestão. Os mesmos autores, avaliando amostras obtidas a partir de 19 rebanhos de alta produção de leite, obtiveram valor médio de NUL de 17,7 mg/dL (variando de 14,4 a 20,2 mg/dL). Hutjens & Barmore em 1995, citados por Broderick (1995), sugeriram que uma variação de NUL de 12 a 17 mg/dL indicaria um ótimo balanceamento de proteína degradada no rúmen e energia fermentada no rúmen. Também valores de 10 a 16 mg/dL, dependendo da produção de leite foram sugeridos por Jonker et al. (1999), que recomendaram a utilização de NUL para avaliar a excreção de nitrogênio em vacas de leite.

Considerando que o incorreto balanceamento de proteína e aminoácidos na dieta resultará em aumentos na concentração de uréia sérica e na excreção urinária de compostos nitrogenados, esforços têm sido feitos para estimar a excreção urinária de N (NU) a partir do NUL ou NUS, que podem facilmente ser determinados. Com os dados obtidos, foram ajustadas equações de regressão para determinar a excreção de NU a partir das concentrações de NUS e NUL e do peso vivo (PV):

$$NU \text{ (g/dia)} = 9,1267 \cdot \text{NUS} \text{ (mg/dL)} \text{ (r}^2=0,73\text{)}$$

$$NU \text{ (g/dia)} = 0,0151 \cdot NUS(\text{mg/dL}) \cdot PV(\text{kg}) \text{ (r}^2=0,69)$$

$$NU \text{ (g/dia)} = 8,1941 \cdot NUL(\text{mg/dL}) \text{ (r}^2=0,73)$$

$$NU \text{ (g/dia)} = 0,0135 \cdot NUL(\text{mg/dL}) \cdot PV(\text{kg}) \text{ (r}^2=0,69)$$

Jonker et al. (1998) recomendaram a equação: $NU \text{ (g/dia)} = 12,54 \cdot NUL \text{ (mg/dL)}$ que superestimou a excreção de NU em 46, 39 e 122% pelas vacas dos tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA, respectivamente. Já Kauffman & St-Pierre (2001) propuseram que a regressão incluísse o peso vivo (PV), sugerindo a equação: $NU \text{ (g/dia)} = 0,0259 \cdot PV(\text{kg}) \cdot NUL(\text{mg/dL})$, a qual também superestimou a excreção de N na urina em 77, 68 e 207% pelas vacas dos tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA, respectivamente. Segundo Kohn et al. (2002), diferenças nas concentrações de NUL e nas equações de predição de NU a partir de NUL encontradas na literatura poderiam estar associadas a variações nos métodos laboratoriais utilizados na determinação da uréia.

Foram verificadas altas correlações entre NUS e NUL, sendo ajustadas as seguintes equações:

$$NUS = 0,8948 \cdot NUL \text{ (r}^2=0,96)$$

$$NUL = 1,1121 \cdot NUS \text{ (r}^2=0,97)$$

Utilizando dados de 419 vacas em lactação, Broderick (1995) encontrou a seguinte equação relacionando NUP e NUL: $NUL = 0,587 \cdot NUP + 5,57$ ($r^2=0,74$), a qual subestimou em 24 e 5% e superestimou em 8% o NUL observado nos tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA, respectivamente.

Foi desenvolvida a seguinte equação para estimar a concentração de N amoniacal no rúmen ($N-NH_3$) a partir da concentração de NUS:

$$N-NH_3 = 0,7407 \cdot NUS - 1,1078 \text{ (r}^2=0,67),$$

evidenciando a forte correlação entre os dois parâmetros.

São apresentadas na Tabela 9, as médias para as purinas absorvidas, compostos nitrogenados microbianos e eficiência de síntese microbiana, determinados a partir das equações propostas por Orellana Boero et al. (2001) ou Gonzalez-Ronquillo et al. (2003). Não foram observadas diferenças em nenhuma das variáveis utilizando-se as duas equações, entretanto observou-se que, para as vacas dos tratamentos ALTA e MÉDIA os valores foram

superiores e do tratamento BAIXA inferiores, utilizando-se a equação com os dados de Gonzalez-Ronquillo et al. (2003) em relação aos de Orellana Boero et al. (2001).

Tabela 9 – Médias e probabilidades (P) das purinas microbianas absorvidas em mmol/dia (Pabs), compostos nitrogenados microbianos em g/dia (Nmic) e eficiência de síntese microbiana em g de proteína microbiana por quilo de nutrientes digestíveis totais consumido (gPBmic/kg NDT) para cada tratamento, utilizando-se a excreção endógena de derivados de purinas e a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas encontradas por Gonzalez-Ronquillo et al. (2003) ou por Orellana Boero et al. (2001)

Tratamentos	Médias		P
	Orellana Boero	Gonzalez-Ronquillo	
	Pabs		
ALTA	395,41	433,33	ns
MÉDIA	316,84	338,31	ns
BAIXA	169,08	153,39	ns
	Nmic		
ALTA	248,86	272,73	ns
MÉDIA	199,42	212,93	ns
BAIXA	106,42	96,54	ns
	gPBmic/kgNDT		
ALTA	128,78	141,03	ns
MÉDIA	128,82	137,04	ns
BAIXA	98,67	89,40	ns

^{ns} - Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Orellana Boero et al. (2001) estimaram que a excreção endógena de purinas foi de $0,236PV^{0,75}$ mmol/dia e a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas foi de 0,84, em estudo com vacas secas. Posteriormente, Gonzalez-Ronquillo et al. (2003), em experimento conduzido com vacas lactantes, relataram a existência de fração endógena de $0,512 PV^{0,75}$ mmol/dia, superior ao valor estimado por Orellana Boero et al. (2001), porém a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas na urina e no leite foram inferiores, sendo em média de 0,56 e 0,70 nas vacas com 10 ou 33 semanas de lactação, respectivamente. Desta forma, quando

calculada segundo Gonzalez-Ronquillo et al. (2003), embora a contribuição endógena tenha sido mais que o dobro da reportada por Orellana Boero et al. (2001), a recuperação das purinas absorvidas foi inferior (0,70), logo as purinas absorvidas calculadas foram próximas, utilizando-se as duas equações. Os dados sobre a excreção de DP de origem endógena na literatura são escassos e heterogêneos, sendo encontradas médias de $0,259PV^{0,75}$ (Kirchgessner & Windish, 1989) e de 0,514 a $0,530PV^{0,75}$ mmol/dia (Daniels et al., 1994) para vacas lactantes, segundo Gonzalez-Ronquillo et al. (2003).

Na Tabela 10 são apresentadas as médias gerais do experimento obtidas em 24 horas de coleta de urina ou estimadas pela amostra de urina *spot*. Ao agrupar todos os tratamentos, não foram detectadas diferenças entre as médias do volume urinário e da excreção de uréia e de derivados de purinas obtidos pela coleta total ou estimados pela coleta *spot* e subsequente não foram detectadas diferenças no fluxo e na eficiência de síntese de PB microbiana. Analisando cada tratamento separadamente, também não foram detectadas diferenças em nenhuma das variáveis avaliadas em nenhum dos tratamentos (dados não apresentados). Logo a coleta *spot* foi capaz de estimar a excreção de DP e uréia em todos os níveis de produção de leite estudados.

Tabela 10 – Médias e probabilidade (P) obtidas em coleta total de urina e estimadas pela amostra de urina *spot*, do volume urinário (VUR), das excreções de N uréico na urina (NUU), de alantoína (ALA), de ácido úrico (AcU) e de derivados de purina totais (DP), da porcentagem de alantoína urinária nos DP (ALA:DP), das purinas microbianas absorvidas (Pabs), dos compostos nitrogenados microbianos (Nmic), da proteína microbiana sintetizada no rúmen (PB mic) e da eficiência microbiana (Efic)

Variáveis	Médias		P
	Obtida	Estimada	
VUR ¹	17,84	20,69	ns
NUU ²	106,93	111,04	ns
ALA ³	250,79	254,60	ns
AcU ³	27,10	27,82	ns
ALA:DP	90,46	90,35	ns
DP ³	278,67	283,20	ns
Pabs ²	293,78	299,11	ns
Nmic ²	184,90	188,25	ns
PBmic ²	1.155,60	1.176,60	ns
Efic ⁴	118,76	124,23	ns

ns - Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t;

¹ - L/dia;

² - g/dia;

³ - mmol/dia;

⁴ - g de PBmic/kg de NDT consumido.

Silva et al. (2001) e Oliveira et al. (2001), ambas em estudo com vacas leiteiras consumindo dietas com níveis crescentes de uréia, também não encontraram diferenças entre as médias obtidas e estimadas para os mesmos parâmetros avaliados no presente trabalho. Rennó et al. (2003) detectaram diferença no volume urinário de novilhos, entretanto não constatarem diferença nos demais parâmetros avaliados através da coleta *spot* ou total. Foi observado que o volume urinário foi pouco correlacionado com a excreção de compostos urinários, devido a uma variação da concentração desses na urina.

Valadares et al. (1999) relataram que a coleta *spot* estimou satisfatoriamente a excreção de derivados de purinas e outros metabólitos urinários em diferentes dietas. Entretanto, Chen et al. (1995) reportaram que a coleta *spot* poderia não ser suficientemente sensível para detectar pequenas diferenças entre tratamentos.

Estão apresentados na Tabela 11, as médias e coeficientes de variação para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico e purinas totais, purinas microbianas absorvidas, compostos nitrogenados microbianos e eficiência microbiana obtidas através da coleta total de urina durante 24 horas, para a excreção de alantoína no leite e o pH ruminal quatro horas após a alimentação matinal, dos diversos níveis de produção de leite. Foram constatadas menores excreções de alantoína e ácido úrico e portanto menor excreção de derivados de purinas, menor absorção intestinal de purinas e menor produção de proteína microbiana no rúmen dos animais de baixa produção. Segundo Gonzalez-Ronquillo et al. (2003), variações na síntese microbiana são associadas a mudanças no suprimento de energia e proteína ao animal hospedeiro, devido a mudanças na produção de leite, o que justifica a correlação entre a produção de leite e a excreção de derivados de purina em diversas publicações na literatura relatadas pelo autor.

Tabela 11 – Médias e coeficientes de variação (CV) , obtidos em coleta total durante 24h, do volume diário de urina (VUR), das excreções urinárias de alantoína (ALA) e ácido úrico (AcU), de alantoína no leite (ALAL), de derivados de purinas totais (DP), da porcentagem de alantoína nos DP (ALA:DP), das purinas absorvidas (Pabs), do nitrogênio microbiano (Nmic), da eficiência microbiana (Efic), e do pH ruminal obtido quatro horas após a alimentação (pH), para os diferentes níveis de produção de leite

Itens	Produção de leite			CV (%)
	ALTA	MÉDIA	BAIXA	
VUR ¹	21,59	21,63	10,30	52,05
ALA ²	323,70 ^a	268,48 ^a	160,18 ^b	23,70
AcU ²	39,28 ^a	27,75 ^b	14,28 ^c	29,98
ALAL	1,12	0,88	0,34	75,04
ALA:DP	89,07	90,51	91,80	3,01
DP ²	364,11 ^a	297,11 ^a	174,80 ^b	23,05
Pabs ²	395,41 ^a	316,84 ^a	169,08 ^b	25,34
Nmic ³	248,86 ^a	199,42 ^a	106,42 ^b	25,34
PBmic ³	1555,62 ^a	1246,36 ^a	665,12 ^b	25,34
Efic ⁴	128,78	128,82	98,67	18,67
pH	6,24	6,54	6,78	3,63

a, b, c - Médias, na linha, seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Newman Keuls a 5% de probabilidade

¹ - L/dia;

² - mmol/dia;

³ - g/dia;

⁴ - g de PBmic/kg de NDT consumido.

Embora não significativas ($P>0,05$), foram encontradas diferenças numéricas na eficiência e na síntese de proteína microbiana entre os animais dos tratamentos ALTA e MÉDIA. A maior produção microbiana concorda com o consumo mais elevado, o qual disponibilizou maior quantidade de substratos fermentáveis e deve ter elevado a taxa de passagem aumentando o arraste de microrganismos do rúmen. Em maiores taxas de passagem, a idade média dos microrganismos é reduzida (Van Soest, 1994), sendo utilizados menos substratos para manutenção microbiana e diminuindo a predação e a reciclagem de nutrientes, aumentando a eficiência microbiana. Giesecke et al. (1993) relataram alta correlação ($r^2=0,84$) entre a excreção urinária de alantoína e a ingestão de energia em vacas lactantes. Como neste trabalho o consumo de concentrado foi proporcional à produção, a maior excreção de derivados de

purinas e a maior eficiência de síntese de proteína microbiana eram esperadas nos animais que consumiram mais matéria orgânica digestível. Em pesquisa realizada por Chen et al. (1992), a eficiência de síntese microbiana, expressa em g de N microbiano por kg de MO digestível consumida foi elevada, quando o consumo de MS em relação ao peso vivo aumentou e, segundo o autor, tal diferença foi devido a uma maior taxa de passagem.

A excreção de alantoína no leite foi numericamente superior nas vacas mais produtivas, entretanto não foram detectadas diferenças significativas ($P>0,05$). Em trabalho realizado por Gonda & Lindberg (1997), as excreções de alantoína no leite foram superiores quando o consumo de MS ou a porcentagem de concentrado na dieta aumentaram. A alantoína no leite representou apenas 0,31, 0,30 e 0,20% da excreção total de DP nos tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA. Gonda & Lindberg (1997), relataram valores de 0,63 a 1,34% de alantoína no leite, em relação a alantoína urinária, e que essa proporção foi variável em diferentes produções de leite, e concluíram que a avaliação apenas da excreção de alantoína láctea não foi um bom indicador da produção microbiana.

A proporção de alantoína em relação aos derivados de purina totais foi, em média, de 90,46%. Valadares et al. (1999) reportaram que a proporção alantoína: DP total não foi afetada pelos níveis de concentrado apresentando valores de 90,2 a 90,7%, similares aos encontrados neste trabalho. Vagnoni et al. (1997) observaram media de 91,1%.

Conclusões

A presença de cinzas e proteína na FDN subestima a digestibilidade da FDN e superestima a dos CNF, porém não afeta o NDT.

A coleta *spot* pode ser utilizada para estimar a excreção diária de derivados de purinas e de uréia na urina em vacas, independentemente do nível de produção.

As concentrações de NUS e NUL podem auxiliar o balanceamento protéico de dietas, contudo a concentração ótima pode variar com o nível de produção de leite.

A excreção diária de N na urina (NU) pode ser estimada utilizando as equações:

$$\text{NU (g/dia)} = 0,0135 \cdot \text{NUL (mg/dL)} \cdot \text{PV (kg)} \quad (r^2=0,69) \text{ ou}$$

$$\text{NU (g/dia)} = 0,0151 \cdot \text{NUS (mg/dL)} \cdot \text{PV (kg)} \quad (r^2=0,69).$$

Referências Bibliográficas

- BRODERICK, G.A. Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow. USDA, Agricultural Research Service. US Dairy Forage Research Center, 1995. **Research Summaries**, 122 p.
- BRODERICK, G.A.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.9, p.2618–2632, 1992.
- BUTLER, W.R.; CHERNEY, D.J.R.; ELROD, C.C. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: CORNELL PROCEEDINGS CONFERENCE, 1., 1995. Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1995. p.89 – 95.
- CAMERON, M.R.; KLUSMEYER, T.H.; LYNCH, G.L. et al. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum and performance of cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.4, p.1321–1336, 1991.
- CHEN, X.B.; CHEN, Y.K.; FRANKLIN, M.F.; et al. The effect of feed intake and body weight on purine derivatives excretion and microbial protein supply in sheep. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1534-1542, 1992.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details (Occasional publication). INTERNATIONAL FEED RESOURCES UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p. 1992.
- CHEN, X.B.; MEJIA, A.T.; KYLE, D.J. et al. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.125, p.137-143, 1995.

- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. 380p.
- FERGUSON, J. D. Milk urea nitrogen. Center for Animal Health and Productivity, 2001, www.vet.upenn.edu/mun/mun-info.html, (20/03/2003).
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.8, p.2376–2381, 1994.
- GONDA, H.L.; LINDBERG, J.E. Effect of diet on milk allantoin and its relationship with urinary allantoin in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.364-373, 1997.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- HALL, M.B. **Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen**. University of Florida, 2000. p. A-25 (Bulletin 339, April- 2000).
- HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3630-3644, 1991.
- HUTJENS, M.F. MUN as a management tool. 1996. www.aces.uiuc.edu/~nsystem/dairyrep96/Hutjens. (20/03/2003).
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Comparação de indicadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to national research council recommendations. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1261-1273, 1999.

- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.10, p.2681-2692, 1998.
- KAUFFMAN, A.J., ST-PIERRE, N.R. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.10, p.2284-2294, 2001.
- KOHN, R.A.; KALSCHEUR, K.F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.1, p.227-233, 2002.
- MAGALHÃES, K.A. **Níveis de uréia ou casca de algodão na alimentação de novilhos de origem leiteira em confinamento**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 90p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- MOORE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium Continuing Education Veterinary**, v.18, n.6, p.712-721, 1996.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. National Academic Press. Washinton, D.C.: 2001. 381p.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- PREGNOLATTO, W., PREGNOLATTO, N.P. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz – métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3º ed., v.1. São Paulo, 1985. 533p.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Indicadores interno ou externo e efeito da contaminação da fibra em detergente neutro sobre a digestibilidade aparente total em novilhos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. (CD-ROM). Nutrição de ruminantes.

- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.
- SANTOS, G.T., CAVALIERI, F.L.B., MODESTO, E.C. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição vacas leiteiras. In: Sinleite - Novos Conceitos em Nutrição, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. p.225-248.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C., 2002. **Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa: Editora UFV – Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.
- SKLAN, D., ASHKENAZI, R., BRAUN, A. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 1998. 150p. (Manual do usuário).
- VAGNONI, D.B.; BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. et al. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VALADARES FILHO, S.C.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CAPPELLE, E.R. **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos. CQBAL 2.0**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Suprema Gráfica Ltda. 2002. 297p.

- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.
- VIEIRA, P. F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Viçosa: UFV,1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, **Proceedings**... Ithaca: Cornell University, 1999. p. 176-185.

Consumo, Digestibilidade, Excreção de Uréia e Derivados de Purinas em Novilhas de Origem Leiteira de Diferentes Pesos Vivo

Resumo – Objetivou-se avaliar o efeito do peso vivo de novilhas sobre o consumo e a digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), os consumos de nutrientes digestíveis totais (NDT) e de proteína degradada no rúmen (PDR), a produção de proteína microbiana, a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen e a excreção de compostos nitrogenados na urina. Avaliaram-se as concentrações de N uréico no soro (NUS) de novilhas de diferentes pesos vivo. Foram comparadas as metodologias de coleta de urina *spot* e de coleta total e o uso de duas equações para quantificação do fluxo de N microbiano. 22 novilhas com diferentes pesos, foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (523, 453, 315, 235 e 118 kg para os tratamentos I, II, III, IV e V, respectivamente). A alimentação foi constituída de silagem de milho à vontade e 1,5 kg de concentrado por dia para as novilhas dos tratamentos I, II, III e IV, e dois kg de concentrado para as novilhas do tratamento V. Os consumos de todos os nutrientes (em kg/dia) foram positivamente correlacionados com o peso dos animais. Quando expresso em relação ao peso das novilhas, o consumo de MS

foi negativamente correlacionado com o mesmo. As digestibilidades da MS, MO e o teor de NDT não diferiram entre os tratamentos, enquanto a digestibilidade da PB e da FDNcp, foi distinta entre os tratamentos, sendo maior e menor, respectivamente, no tratamento V. A presença de cinzas e proteína na FDN subestimou a digestibilidade da FDN e superestimou a dos CNF. Os teores de NUS e a excreção de N e de uréia na urina (em mg/kgPV) foram altamente correlacionados e superiores nas novilhas menores, variando com o peso vivo e com o consumo de PB e PDR. A produção microbiana não diferiu entre as metodologias de coleta *spot* e de coleta total de urina, sendo inferior nos animais menores. Assim, a coleta de urina *spot* pode ser utilizada para estimar a excreção de compostos nitrogenados na urina e a produção de proteína microbiana.

Palavras- chave: coleta *spot*, derivados de purinas, FDNcp, N uréico no soro, proteína microbiana.

Intake, Digestibility and Urea and Purine Derivatives Excretion in Dairy Heifers with Different Live Weight

Abstract – It was aimed to evaluate the effect of heifer's live weight on intakes and total and partial digestibilities of dry matter (DM), organic matter (OM), ether extract (EE), crude protein (CP), neutral detergent fiber corrected to ashes and protein (NDFap), non-fiber carbohydrates corrected (NFCap), on the total digestible nutrients (TDN) and ruminally degraded protein (RDP) intakes, on the microbial protein synthesis, on the serum urea nitrogen (SUN) and ruminal ammonia concentrations, on the urinary nitrogenous compounds excretion and on the serum urea nitrogen (SUN) concentration. The spot urine sampling and the urine total collection methodologies was compared to quantify de microbial N flow. 22 heifers with different live weight, were allocated in a completely randomized design with five treatments (523, 453, 315, 235 and 118 kg to treatments I, II, III, IV and V, respectively). The diet was constituted of corn silage *ad libitum* and 1.5 kg/day of concentrate to heifers of the treatments I, II, III and IV, and two kg/day of concentrate to heifers of the treatment V. When expressed in relation to live weight, the DM intake was negatively correlated with the heifer's live weight. The DM and OM digestibilities and the TDN content didn't differ among the treatments, while the CP and NDFap digestibilities were different among the treatments, and were higher and smaller in treatment V, respectively. The presence of ashes and protein on NDF underestimated the digestibilities of NDF and overestimated the digestibilities of NFC. The SUN

concentration and urinary N excretion (in mg/kgLW) were highly correlated and superiors in the smaller heifers, and varied with the heifer's live weigh and with the CP and RDP content of the diet. The microbial synthesis didn't differ among the urinary spot sampling and the urine total collection methodologies, and was smaller in the smaller heifers. So, the spot urine sampling can be utilized to estimate the urinary nitrogenous compounds excretion and the microbial protein synthesis.

Key-words: microbial protein, NDFap, purine derivatives, serum urea nitrogen, spot sampling.

Introdução

A recria de novilhas de reposição constitui-se em um componente de capital importância para garantir a evolução genética e produtiva do rebanho. Todavia, em geral, ocorre negligência quanto ao manejo e alimentação destes animais com suprimento dietético incompatível com sua elevada exigência para crescimento, o que pode comprometer o ganho de peso, favorecendo o aumento na idade ao primeiro parto, redução dos índices produtivos e aumento nos custos do animal de reposição. Os altos gastos com a alimentação destes animais, os quais ainda não retornam os custos através da produção de leite, são os principais responsáveis pela situação exposta. A suplementação concentrada visa corrigir as carências nutricionais e permitir a redução da idade ao primeiro parto, mas deve ser realizada com cautela e conhecimento para evitar elevação do custo final de produção. Os concentrados fornecidos são oriundos da combinação de diferentes alimentos e as fontes protéicas deste são os ingredientes, individualmente, mais onerosos. Desta forma, tem sido objetivo da nutrição de ruminantes, a formulação de dietas com teores ótimos de PB e aminoácidos, entretanto, estes variam em função do potencial genético, idade, ganho de peso, bem como da concentração de outros nutrientes na dieta, tais como, os carboidratos.

Existe uma correlação positiva entre ingestão de N e concentração de uréia no soro (Preston et al., 1965). A concentração elevada de uréia sérica está relacionada com a utilização ineficiente da proteína bruta da dieta (Broderick & Clayton, 1997). A quantidade de uréia que é sintetizada no fígado é proporcional à concentração de amônia produzida no rúmen, e sua concentração sanguínea está diretamente relacionada com o aporte protéico e a relação energia: proteína dietética (Harmeyer & Martens, 1980). Van Soest (1994) afirmou que, se a taxa de degradação de proteína exceder a de fermentação de carboidratos, grande quantidade de compostos nitrogenados pode ser perdida como uréia, na urina. O teor de nitrogênio uréico no soro (NUS) tem sido utilizado com a finalidade de fornecer informações adicionais sobre o *status* da nutrição protéica de ruminantes, envolvendo a resposta

metabólica destes a determinada dieta. Desta forma, podem-se evitar as perdas econômicas advindas do fornecimento inadequado de proteína dietética e os possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais.

As exigências de proteína metabolizável para ruminantes são atendidas pela absorção no intestino delgado da proteína microbiana e proteína dietética não-degradada no rúmen digestíveis, sendo que a proteína microbiana pode suprir de 50 a 100% da proteína metabolizável exigida (NRC, 1996). A proteína sintetizada pelos microrganismos no rúmen possui excelente perfil de aminoácidos e composição pouco variável (NRC, 2001), o que denota a importância do estudo dos mecanismos de síntese protéica microbiana e dos fatores a eles relacionados, visando sua maximização. O crescimento microbiano no rúmen é influenciado pela interação de fatores químicos, fisiológicos e nutricionais. A disponibilidade energética é apontada como fator limitante para o crescimento microbiano. Esta disponibilidade de energia, por sua vez, depende da composição da dieta e da extensão da fermentação ruminal da mesma (Hoover & Stokes, 1991).

Vários estudos confirmaram a relação existente entre produção de proteína microbiana e excreção de derivados de purina na urina (Verbic et al., 1990; Valadares et al., 1999; Rennó et al., 2000; Orellana Boero et al., 2001, Leão et al., 2002 e Rennó et al., 2003). A excreção de derivados de purinas na urina constitui-se em um método simples e não-invasivo para estimar a produção de proteína microbiana no rúmen. Essa técnica assume que os ácidos nucléicos presentes no duodeno são de origem predominantemente microbiana e após digestão intestinal dos nucleotídeos purínicos, as purinas absorvidas são catabolizadas e recuperadas proporcionalmente na urina como derivados de purinas. Segundo Chen & Gomes (1992), a alantoína e o ácido úrico são os principais derivados de purina presentes na urina de bovinos porque a alta atividade da enzima xantina oxidase, no sangue e nos tecidos, converte xantina e hipoxantina em ácido úrico antes da excreção, sendo a excreção de xantina e hipoxantina considerada irrisória em bovinos.

O método baseado na excreção de derivados urinários de purinas requer coleta total de urina, o que não é viável como rotina experimental. Entretanto, segundo Valadares et al. (1997), pode ser possível simplificar a

coleta de urina utilizando-se a excreção de creatinina na urina como indicador da produção urinária, uma vez que essa excreção é relativamente constante em função do peso vivo e pelo fato de ser pouco ou não afetada por fatores dietéticos (Susmel et al., 1994; Chen et al., 1995; Vagnoni et al., 1997; Rennó et al., 2000; Oliveira et al., 2001; Silva et al., 2001; Pimpa et al., 2001 e Rennó, 2003). Assim, se coletada uma única amostra diária de urina, denominada de amostra *spot*, e determinada a concentração de creatinina, a excreção de compostos urinários como a uréia e os DP, podem ser estimados, facilitando a obtenção de dados experimentais e possibilitando a utilização dessa técnica em condições a campo.

Desta forma, o presente trabalho foi realizado objetivando-se:

- avaliar o efeito do peso vivo sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes;
- avaliar o efeito do peso vivo sobre as concentrações de nitrogênio uréico no soro (NUS) e sobre a excreção de N, uréia e derivados de purinas na urina;
- Comparar a produção de proteína microbiana obtida através da coleta *spot* ou da coleta total de urina;
- Determinar a relação entre as concentrações de amônia ruminal e NUS e a relação entre a excreção de N na urina e NUS.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG, sendo a fase de campo realizada durante abril de 2003.

A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas de posição 20°45'20" de latitude sul e 45°52'40" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 657m. A

temperatura média e a precipitação pluviométrica observadas nos anos de 2000 e 2001 foram de, respectivamente, 20°C e 1217,9 mm e 20,7°C e 1148 mm (Universidade Federal de Viçosa, 2002).

Foram utilizadas 22 novilhas, com grau de sangue predominantemente Holandês, com diferentes pesos, em sistema de confinamento total, tipo *Tie Stall*, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos:

Tratamento I - quatro novilhas com peso médio de 523 kg (entre 494-546 kg);

Tratamento II - cinco novilhas com peso médio de 453 kg (entre 443-471 kg);

Tratamento III - quatro novilhas com peso médio de 315 kg (entre 310-345 kg);

Tratamento IV - cinco novilhas com peso médio de 235 kg (entre 203-274 kg);

Tratamento V - quatro novilhas com peso médio de 118 kg (entre 107-137 kg).

Os animais foram mantidos em baias providas de comedouros e bebedouros individuais, alimentados, duas vezes ao dia, com silagem de milho à vontade e concentrado em quantidades equivalentes ao manejo do rebanho da UEPE-GL/DZO-UFV. As novilhas dos tratamentos I, II, III e IV receberam 1,5 kg por dia de concentrado formulado para novilhas de seis a 12 meses (C1). As novilhas do tratamento V receberam dois kg por dia do concentrado formulado para as novilhas de três a seis meses do rebanho da UEPE-GL (C2).

O período experimental teve duração de 10 dias, sendo a alimentação fornecida diariamente as 8:00 e 16:00 h, de modo a permitir sobras de 5% na base da matéria seca total, que foram quantificadas e amostradas diariamente pela manhã.

As proporções dos ingredientes nos concentrados estão apresentadas na Tabela 1 e a composição média dos alimentos utilizados estão na Tabela 2. A composição química-bromatológica dos ingredientes utilizados nos concentrados foi apresentada no capítulo anterior (Tabela 2, Capítulo três).

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes nos concentrados, na base da matéria natural

Ingredientes (%)	Concentrados	
	C1	C2
Fubá de milho	56,35	54,73
Farelo de Soja	42,11	43,85
Flor de enxofre	0,02	-
Sal	0,52	0,34
Fosfato bicálcico	0,91	0,30
Calcário	-	0,70
Premix mineral ¹	0,10	0,08

¹ – Composição: sulfato de zinco, 50,82%; sulfato de cobre, 11,76%; Sulfato de manganês, 36,80%; iodato de potássio, 0,30%; sulfato de cobalto, 0,20%; selenito de sódio, 0,12%.

Tabela 2 – Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), carboidratos não-fibrosos calculado com FDNcp (CNFcp), fibra em detergente ácido (FDA), lignina e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) dos alimentos, com base na matéria seca

Itens	Silagem de milho	Concentrados	
		C1	C2
MS (%)	24,93	88,59	88,59
MO	94,83	94,56	94,58
PB	6,56	25,45	26,17
PDR ¹	76,06	69,57	65,38
NIDN ¹	17,01	4,83	4,93
NIDA ¹	10,84	2,82	2,78
EE	3,07	3,13	3,12
FDN	54,10	9,61	9,65
FDNcp	50,33	8,66	8,68
CNF	31,11	56,36	55,64
CNFcp	34,88	57,31	56,60
FDA	34,43	5,29	5,19
Lignina	4,73	0,77	0,76
FDAi	17,90	0,42	0,42

¹ - Expressos em % do N total.

Os animais foram pesados ao início e término do período experimental, sendo calculado o peso médio das novilhas.

No dia seis e oito do período experimental foram coletadas amostras de fezes no reto, às 18:00 e 6:00h, respectivamente. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, a 65°C por 72 horas, moídas em moinho de facas com peneira com crivos de um mm e então elaborou-se uma amostra composta por animal, com base no peso seco de cada subamostra.

Utilizou-se a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) para se estimar a produção de matéria seca fecal, conforme proposto por Cochran et al. (1986). Entretanto, utilizou-se incubação ruminal em sacos de ankom (*filter bags* F57), por 144 horas, em vez da digestibilidade *in vitro*, sugerida no protocolo original. Foram incubadas amostras de sobras, fezes e dos ingredientes utilizados nas dietas. O material remanescente da incubação foi submetido à fervura em detergente ácido por uma hora, sendo o resíduo considerado FDAi.

Alíquotas de 50 mL de urina (amostra *spot*) foram obtidas de todas as novilhas no sétimo dia do período experimental, aproximadamente quatro horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram retiradas e diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e a precipitação do ácido úrico, e armazenadas a -15°C para posteriores análises de uréia, alantoína e ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais e creatinina. Concomitantemente obtiveram-se amostras de sangue por punção da veia coccígea, utilizando-se tubo de ensaio com gel separador e acelerador de coagulação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos para a obtenção do soro que foi armazenado em congelador para posteriores análises de uréia.

No nono dia do período experimental, foi realizada coleta de urina de cada animal durante 24 h, utilizando-se cateteres de Folley de números 14 a 26, de acordo com o tamanho da novilha, procedendo-se a quantificação do volume urinário em 24 horas e processando-se as amostras da mesma forma descrita no capítulo anterior. A coleta de urina foi acompanhada 24 horas.

Amostras de conteúdo ruminal foram coletadas quatro horas após a alimentação matinal no 10º dia, utilizando-se mangueira de borracha introduzida pelo esôfago, com uma das extremidades acoplada a kitassato e bomba de vácuo, para determinação do pH e concentração de amônia do líquido ruminal.

O processamento das amostras de alimentos, sobras e fezes e as análises de MS, cinzas, nitrogênio total, NIDA, NIDN, EE e FDA foram feitas segundo Silva & Queiroz (2002). A FDN foi determinada pela técnica da autoclave, segundo Rennó et al. (2002), quantificando-se os teores de PB e cinzas da FDN conforme Silva & Queiroz (2002), para determinação da FDN corrigida (FDNcp). Os CNFcp foram calculados por intermédio da equação (Weiss, 1999): $CNFcp = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas + \%FDNcp)$; os CNF foram calculados pela mesma equação, porém utilizou-se a FDN sem correção.

Os teores de proteína degradável no rúmen (PDR) foram calculados conforme recomendações do NRC (2001) a partir dos coeficientes obtidos no ensaio de degradabilidade da proteína (capítulo três), através da seguinte equação:

$$PDR = a + b * \left(\frac{Kd}{Kd + kp} \right)$$

em que kp, é a taxa de passagem da digesta ruminal, calculada para cada animal pelas equações propostas pelo NRC (2001), que foram de 4,1; 4,21; 4,49; 4,7 e 5,66%/h, respectivamente, para os tratamentos I, II, III, IV e V. Os coeficientes para cálculo da degradabilidade da PB da silagem de milho utilizados foram de 54,72; 36 e 6,68%/h, respectivamente, para a fração a, b e Kd (Valadares Filho et al., 2002).

As concentrações de N-NH₃ nas amostras do líquido ruminal foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio 2N, conforme técnica de Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

A determinação da uréia na urina e no soro foi realizada segundo o método diacetil modificado (kits comerciais).

A creatinina foi determinada nas amostras de urina *spot* com o uso de kits comerciais (Labtest), pelo método de ponto final, com utilização de picrato e acidificante. A excreção diária de creatinina (EC) foi estimada conforme

proposto no capítulo 2: $EC \text{ (g/dia)} = 32,27 - 0,01093 \cdot PV \text{ (kg)}$. A concentração de creatinina na amostra de urina *spot* foi utilizada para estimar o volume urinário e assim estimar a excreção dos demais compostos urinários para comparação dos valores estimados pela amostra *spot* com os observados na coleta total.

As análises de alantoína e de ácido úrico na urina foram feitas pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992).

A excreção total de DP foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina, expressas em mmol/dia.

As purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), foram calculadas a partir da excreção urinária de derivados de purinas (DP, mmol/dia) por intermédio da equação:

$$DP = 0,84 \cdot Pabs + 0,236 \cdot PV^{0,75}$$

em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina na urina e $0,236 \cdot PV^{0,75}$, a excreção endógena de derivados de purina na urina, em mmol/dia (Orellana Boero et al., 2001). Também foram calculadas as purinas absorvidas, produção e eficiência microbiana utilizando recuperação de 0,85 e contribuição endógena de $0,385 \cdot PV^{0,75}$ mmol/dia, encontradas por Verbic et al. (1990).

A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia), foi calculada em função das purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação (Chen & Gomes, 1992):

$$Nmic = (70 \cdot Pabs) / (0,83 \cdot 0,134 \cdot 1000)$$

onde 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol), 0,134 a relação N purina : N total nas bactérias (Valadares et al. 1999) e 0,83 a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

Os resultados foram avaliados por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), UFV (1998). Os critérios utilizados para escolha do modelo foram o coeficiente de determinação (r^2) e a significância observada por meio do teste F, a 5% de probabilidade. Foi utilizado o teste t a 5% de probabilidade para

comparação das duas equações de predição das purinas absorvidas e das metodologias de coleta de urina.

Resultados e Discussão

Estão apresentados na Tabela 3 os consumos médios dos nutrientes pelas novilhas de diferentes pesos e na Tabela 4 as respectivas equações de regressão. A relação volumoso: concentrado das dietas fornecidas foi de 85,69; 84,16; 81,53; 78,04 e 53,05%, respectivamente, para os tratamentos I, II, III, IV e V. Como esperado, o peso do animal teve grande influência sobre o consumo de MS e, conseqüentemente, sobre o consumo de todos os nutrientes.

Tabela 3 – Médias e coeficientes de variação (CV) , obtidas para, os consumos diários de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp) e nutrientes digestíveis totais (NDT), para novilhas de diferentes pesos

Itens	Peso médio (kg)					CV (%)
	523	453	315	235	118	
Consumos (kg)						
MS	7,72 ^a	7,27 ^a	6,30 ^b	5,20 ^c	3,28 ^d	8,12
MO	7,31 ^a	6,89 ^a	5,97 ^b	4,92 ^c	3,11 ^d	8,14
PB	0,75 ^a	0,73 ^a	0,66 ^b	0,59 ^c	0,55 ^c	5,41
PDR	0,57 ^a	0,55 ^a	0,50 ^b	0,44 ^c	0,39 ^d	5,42
EE	0,24 ^a	0,22 ^a	0,19 ^b	0,16 ^c	0,11 ^d	8,09
FDNcp	3,34 ^a	3,11 ^a	2,56 ^b	2,04 ^c	0,92 ^d	9,58
CNFcp	2,98 ^a	2,82 ^a	2,54 ^b	2,14 ^c	1,53 ^d	7,61
NDT	5,00 ^a	4,64 ^a	4,21 ^b	3,45 ^c	2,23 ^d	8,40
Consumos (%PV)						
MS	1,48 ^d	1,61 ^d	1,94 ^c	2,15 ^b	2,77 ^a	7,39
FDN	0,64 ^c	0,69 ^{bc}	0,79 ^{ab}	0,84 ^a	0,77 ^{abc}	9,51

a, b, c, d – Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Newman Keuls a 5% de probabilidade.

Tabela 4 – Equações de regressão (REG) e coeficientes de determinação (r^2), obtidos para os consumos diários de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida (FDNcp), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp) e nutrientes digestíveis totais (NDT), em função dos peso do animais

Itens	REG	r^2
Consumo (kg)		
MS	$\hat{Y}=2,3876+0,0108*PV$	0,94
MO	$\hat{Y}=2,2582+0,0102*PV$	0,94
PB	$\hat{Y}=0,4796+0,000526*PV$	0,97
PDR	$\hat{Y}=0,3300+0,0004737*PV$	0,89
EE	$\hat{Y}=0,0821+0,0003109*PV$	0,95
FDNcp	$\hat{Y}=0,4657+0,005825*PV$	0,93
CNFcp	$\hat{Y}=1,2307+0,003534*PV$	0,94
NDT	$\hat{Y}=1,7149+0,006596*PV$	0,94
Consumo (%PV)		
MS	$\hat{Y}=3,0028-0,003068*PV$	0,93
FDN	$\hat{Y}=0,8795-0,0003989*PV$	0,66

O consumo de todos nutrientes (kg/dia) apresentou comportamento linear crescente com o peso vivo. De certa forma esse comportamento já era esperado devido à alta correlação entre o consumo de MS e o peso do animal descrita pelo NRC (1996). Diversos fatores afetam o consumo, como concentração energética da dieta, o peso, o tamanho à maturidade, o sexo, a porcentagem de gordura no corpo do animal, a disponibilidade de alimento, fatores ambientais, entre outros. Quando o peso animal foi ajustado, para diminuir os efeitos de sexo, idade e tamanho à maturidade do animal, ele foi responsável por aproximadamente 60% da variação no consumo (NRC, 1996). O consumo de MS, expresso em % do PV, correlacionou-se negativamente com o PV.

A composição corporal, principalmente a porcentagem de gordura, é apontada como um dos principais fatores metabólicos relacionados ao controle da ingestão (NRC, 1987). Segundo Fox et al. (1988), citados pelo NRC (1996),

o consumo de MS diminui 2,7% para cada unidade percentual de aumento no teor de gordura corporal. Possivelmente a leptina produzida no tecido adiposo estaria envolvida neste controle. Animais que já atingiram a maturidade apresentam maior teor de gordura na carcaça. O tecido adiposo é o tecido de desenvolvimento mais tardio; desta forma, animais mais leves estão mais distantes do peso à maturidade, apresentando menor proporção de gordura no corpo e, portanto, ingerem mais MS (em %PV).

As taxas de passagem estimadas pelas equações propostas pelo NRC (2001) foram de 4,1; 4,21; 4,49; 4,7 e 5,66%, respectivamente, para os tratamentos I, II, III, IV e V, possibilitando um maior consumo, em relação ao peso vivo, pelos animais menores.

Na Tabela 5 estão apresentadas as médias dos coeficientes de digestibilidade aparente total e teor de NDT das dietas. As digestibilidades da MS, MO, e CNFcp e a porcentagem de NDT das dietas foram similares entre os tratamentos, embora o consumo tenha aumentado.

Tabela 5 – Médias e coeficientes de variação (CV), obtidos para os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp) e teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) dietéticos, para os pesos médios dos animais

Itens	Peso médio (kg)					CV (%)
	523	453	315	235	118	
MS	63,35	62,08	65,39	65,09	66,44	3,63
MO	64,92	64,05	67,13	66,93	68,21	3,71
PB	60,42 ^{bc}	57,55 ^c	59,73 ^{bc}	61,63 ^b	66,49 ^a	3,68
EE	83,56 ^a	84,02 ^a	84,22 ^a	76,00 ^{ab}	78,48 ^b	4,56
FDNcp	50,13 ^a	51,16 ^a	54,60 ^a	52,19 ^a	41,60 ^b	7,94
CNFcp	81,11	78,38	80,38	81,71	83,73	3,98
NDT ¹	64,69	63,88	66,83	66,31	67,88	3,57

a, b, c — Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Newman Keuls a 5% de probabilidade;

¹ - expresso em % da MS.

Considerando que um maior consumo de MS/kgPV tende a elevar a taxa de passagem da digesta, este aumento não teve influência sobre a digestibilidade da MS. Como a silagem foi fornecida à vontade e o concentrado foi fornecido na mesma quantidade para os animais dos tratamentos I, II, III e IV e em maiores quantidades para os do tratamento V, a relação volumoso: concentrado foi menor para os animais mais leves que, portanto, consumiram dieta menos fibrosa e que não foi mais digestível em função da passagem mais rápida pelo trato gastrointestinal.

Observaram-se maiores digestibilidades da PB das dietas para as novilhas menores (118 kg), possivelmente devido ao maior teor de PB das dietas, uma vez que isto implica em progressiva diminuição da proporção de N endógeno nos compostos nitrogenados fecais (Cameron et al., 1991), elevando assim a digestibilidade aparente da PB.

A digestibilidade da FDN foi inferior no tratamento V (118 kg), onde os animais apresentaram maior consumo em porcentagem do PV e consumiram dietas com maior proporção de concentrado, o que pode ter ocasionado em maior taxa de passagem da digesta, afetando negativamente a digestão da fração fibrosa da ração. Além disso, o maior consumo de concentrado resultou em menor pH ruminal (Tabela 10), podendo ter diminuído a atividade das bactérias fibrolíticas.

Na Tabela 6 são apresentadas as comparações entre as médias das digestibilidades aparentes totais da FDN e dos CNF, corrigidas ou não para cinzas e proteína em cada tratamento. Verificou-se que a correção da FDN aumentou, em média, 4,84% a digestibilidade da FDN. A falta de correção da FDN superestimou em 5,77% a digestibilidade dos CNF. Dessa forma, sugere-se que a digestibilidade da FDN e dos CNF sem correção sejam multiplicadas por 1,05 e 0,94, respectivamente.

Tabela 6 – Médias, diferenças e coeficientes de variação (CV) das digestibilidades da fibra em detergente neutro e dos carboidratos não-fibrosos corrigidas (FDNcp e CNFcp) ou não (FDN e CNF) para cinzas e proteína para cada tratamento

Itens	Peso médio (kg)					CV (%)
	523	453	315	235	118	
FDN	48,25 ^A	48,83 ^A	52,97 ^A	50,33 ^A	38,23 ^A	8,08
FDNcp	50,13 ^B	51,16 ^B	54,60 ^B	52,19 ^B	41,60 ^B	7,94
Diferença	-3,89%	-4,76%	-3,08%	-3,69%	-8,81%	
CNF	86,84 ^B	84,05 ^B	84,65 ^B	86,34 ^B	88,23 ^B	3,67
CNFcp	81,11 ^A	78,38 ^A	80,38 ^A	81,71 ^A	83,73 ^A	3,98
Diferença	6,59%	6,74%	5,05%	5,36%	5,09%	

^{A, B} - Médias, na mesma coluna, para FDN e CNF, seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste t a 5%.

Rennó et al. (2002) verificaram que a presença de cinzas e proteína na FDN subestimou a digestibilidade da FDN e superestimou a dos CNF, e sugeriram que a digestibilidade da FDN seja multiplicada por 1,042 e a dos CNF por 0,96. Magalhães (2003) não encontrou diferença entre a digestibilidade da FDN e da FDNcp, mas verificou diferença significativa entre CNF e CNFcp, sugerindo a multiplicação da digestibilidade dos CNF por 0,87 para a correção. Vale ressaltar que independentemente do uso da FDN e CNF corrigidos ou não, o NDT das dietas permanece inalterado.

As médias das excreções diárias de uréia e as concentrações de N uréico no soro e na urina e de N-NH₃ no rúmen, estão apresentadas na Tabela 7. A excreção de urina foi altamente variável e não foram detectadas diferenças entre as diversas faixas de peso.

As concentrações de NUS e NH₃ ruminal e a excreção urinária de uréia foram negativamente correlacionadas com o peso das novilhas. As porcentagens de PB dietética foram em média de 9,68; 9,99; 10,55; 11,33 e 16,96% da MS, para os tratamentos de peso médio de 523, 453, 315, 235 e 118 kg, respectivamente. Valadares et al. (1997), em estudo conduzido com novilhos alimentados com dietas contendo 7,0; 9,5; 12,0 e 14,5% de PB

relataram níveis de NUP de 8,1; 9,1; 15,7 e 19,5 mg/dL, respectivamente, e influência do teor de PB dietética sobre a concentração de amônia ruminal e sobre a excreção de N uréico urinário. Maiores concentrações de NUP e NH₃ ruminal em dietas mais protéicas também foram encontradas por Preston et al. (1965) e por Rennó et al. (2003).

Tabela 7 – Médias e coeficientes de variação (CV), obtidos para os volumes urinários (VUR), para as concentrações de N amoniacal no rúmen (N-NH₃) e de N uréico no soro (NUS), e para as excreções de N total na urina (NU) e de N uréico na urina (NUU), para os diferentes agrupamentos de pesos

Itens	Peso médio (kg)					CV (%)
	523	453	315	235	118	
VUR (kg/dia)	22,23	17,47	22,98	14,82	11,30	55,45
Concentrações (mg/dL)						
N-NH ₃	4,60 ^b	5,02 ^b	5,58 ^b	5,26 ^b	11,81 ^a	25,64
NUS	4,08 ^b	4,14 ^b	4,11 ^b	6,36 ^b	13,89 ^a	32,12
Excreções diárias						
NU (g)	40,99 ^{abc}	45,53 ^{ab}	48,69 ^a	31,09 ^{bc}	28,44 ^c	22,95
NUU (g)	23,98	31,16	32,40	22,37	26,76	19,24
NU (mg/kgPV)	77,68 ^d	100,16 ^{cd}	149,69 ^b	129,11 ^{bc}	241,04 ^a	19,37
NUU (mg/kgPV)	45,85 ^c	68,67 ^{bc}	100,00 ^b	92,40 ^b	227,37 ^a	20,97

a, b, c, d, – médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de t a 5% de probabilidade

Devido à maior proporção de proteína degradável no rúmen na MS dietética e ao maior consumo de PB em relação à energia dietética pelas novilhas mais leves (em ordem crescente, a relação PB consumida:NDT consumido foi de 14,97; 15,65; 15,8; 17,09 e 25,07% para os tratamentos 523, 453, 315, 235 e 118 kg, respectivamente), maiores foram as concentrações de NH₃ ruminal e de NUS e, conseqüentemente, maior foi a excreção de uréia (mg/kgPV) urinária pelos animais mais leves. A excreção de NU e NUU, em relação ao peso, foi altamente variável entre os tratamentos.

Considerando que o incorreto balanceamento de proteína e aminoácidos na dieta resultará em aumentos na concentração de uréia sérica e na excreção

urinária de compostos nitrogenados, esforços têm sido feitos para estimar a excreção urinária de N (NU) a partir da concentração de NUS, que pode ser facilmente determinada. Com os dados obtidos, foram ajustadas equações de regressão para determinar a excreção de NU a partir da concentração de NUS:

$$\text{NU (mg/kgPV/dia)} = 12,7504 * \text{NUS (mg/dL)} + 55,6131 \text{ (r}^2=0,76\text{)}$$

$$\text{NU (mg/kgPV/dia)} = 18,939 * \text{NUS (mg/dL)} \text{ (r}^2=0,51\text{)}.$$

Também foi desenvolvida a seguinte equação para estimar a concentração de amônia no rúmen (N-NH₃), quatro horas após a alimentação, a partir da concentração de NUS:

$$\text{N-NH}_3 = 0,6137 * \text{NUS} + 2,4051 \text{ (r}^2=0,69\text{)}.$$

Os coeficientes de correlação evidenciam a alta correlação entre os parâmetros avaliados, concordando com os relatos de Broderick & Clayton (1997).

Estão apresentadas na Tabela 8 as médias das purinas microbianas absorvidas, compostos nitrogenados microbianos, e eficiências microbianas calculadas utilizando-se os valores de excreção de DP endógenos e de recuperação urinária das purinas absorvidas obtidos por Orellana Boero et al. (2001) ou Verbic et al. (1990), para os diferentes tratamentos. Não foram detectadas diferenças entre as variáveis avaliadas em nenhum dos tratamentos.

Tabela 8 – Médias e probabilidades (P) das purinas microbianas absorvidas em mmol/dia (Pabs), compostos nitrogenados microbianos em g/dia (Nmic) e eficiência de síntese microbiana em g de proteína microbiana por quilo de nutrientes digestíveis totais consumido (gPBmic/kg NDT) para cada tratamento, utilizando-se a excreção endógena de derivados de purinas e a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas encontradas por Orellana Boero et al. (2001) ou por Verbic et al. (1990)

Tratamentos	Médias		P
	Orellana Boero	Verbic	
Pabs			
I	163,59	144,43	ns
II	158,18	140,95	ns
III	142,50	129,05	ns
IV	126,94	116,17	ns
V	88,34	82,04	ns
Nmic			
I	102,96	90,90	ns
II	99,55	88,71	ns
III	89,68	81,22	ns
IV	79,90	73,12	ns
V	55,60	51,64	ns
gPBmic/kg NDT			
I	128,93	119,68	ns
II	134,14	125,88	ns
III	133,60	127,34	ns
IV	143,96	137,74	ns
V	156,81	153,14	ns

ns - Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Orellana Boero et al. (2001), em estudo com vacas secas, reportaram excreção endógena de DP de $0,235PV^{0,75}$ mmol/dia e recuperações das purinas na urina como DP de 0,84, valores inferiores aos encontrados por Verbic et al. (1990), de $0,385PV^{0,75}$ mmol/dia e 0,85, respectivamente, para a contribuição endógena e recuperação dos DP. Como Verbic et al. (1990) encontraram maiores excreções de DP endógena, as purinas microbianas absorvidas estimadas foram numericamente inferiores. Martín-Orúe et al. (2000), em estudo conduzido com novilhas, reportaram diferença de 12% na produção microbiana estimada pelas duas equações, entretanto tal diferença não foi significativa. Rennó (2003), em estudo com novilhos, comparou a metodologia das bases purinas no abomaso com a dos DP urinários, utilizando

as equações de Orellana Boero et al. (2001) ou Verbic et al. (1990) para determinar a produção compostos nitrogenados microbianos, e não encontrou diferença entre as metodologias ou equações supracitadas, sugerindo a utilização dos dados encontrados por Orellana Boero et al. (2001).

Na Tabela 9 são apresentadas as médias obtidas em coleta total e estimadas pela coleta de urina *spot*, para o volume urinário, excreções de DP e uréia, porcentagem de alantoína nos DP, purinas microbianas absorvidas e compostos nitrogenados, proteína e eficiências microbianas. Apenas o volume urinário foi significativamente distinto entre as duas metodologias de coleta, que foram realizadas em dias diferentes, contudo esta diferença não influenciou a excreção diária dos demais compostos urinários.

Tabela 9 – Médias e probabilidades (P) obtidas em coleta total e estimadas pela amostra *spot*, do volume urinário (VUR), excreções de N uréico (NUU), alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), porcentagem de alantoína urinária nos DP (ALA:DP), purinas microbianas absorvidas (Pabs), compostos nitrogenados microbianos (Nmic), proteína microbiana sintetizada no rúmen (PBmic) e eficiência microbiana (Efic)

Variáveis	Médias		P
	Obtida	Estimada	
VUR ¹	17,61	32,28	*
NUU ²	104,46	80,67	ns
ALA ³	122,04	112,96	ns
AcU ³	12,08	13,33	ns
DP ³	134,12	126,25	ns
ALA:DP	90,84	89,30	ns
Pabs ³	136,51	127,30	ns
Nmic ⁴	85,92	80,12	ns
PBmic ⁴	537,00	500,80	ns
Efic ⁵	139,45	132,48	ns

^{ns} e * - Não significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade pelo teste t,

¹ – L/dia;

² – mg/kgPV/dia;

³ – mmol/dia;

⁴ – g/dia;

⁵ – g de PBmic/kg de NDT consumido.

A excreção de urina foi pouco correlacionada com a excreção dos compostos urinários estudados. Desta forma, uma mudança no volume urinário

devido ao consumo de água por exemplo, pode alterar a concentração urinária sem, no entanto, alterar a excreção diária de compostos urinários como os DP, a uréia e a creatinina. Chen et al. (1995), em estudo da variação diurna das concentrações de creatinina e DP em novilhas submetidas a diferentes freqüências de alimentação, reportaram pequenas oscilações na concentração destes e verificaram que a variação na concentração de creatinina na urina foi similar à variação observada nos DP. Assim, os autores não encontraram diferenças na relação DP:creatinina nos diferentes tratamentos e tempos de amostragem e concluíram que uma amostra de urina colhida ao longo do dia (*spot*) poderia ser utilizada para estimar a excreção diária de DP na urina. Rennó et al. (2003) detectaram diferença entre as metodologias no volume urinário de novilhos entretanto, não constataram diferença nas excreções de DP através da coleta *spot* ou total, sugerindo que a amostra *spot* pode ser utilizada como método rápido e eficaz para determinação do fluxo de proteína microbiana.

Estão apresentadas na Tabela 10 as médias obtidas com a coleta total de urina durante 24 horas para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico e purinas totais, purinas microbianas absorvidas, compostos nitrogenados microbianos, eficiência microbiana e o pH ruminal quatro horas após a alimentação matinal, para os diferentes pesos das novilhas.

As excreções diárias de alantoína e DP foram inferiores nas novilhas menores, sendo o mesmo comportamento observado para o consumo de MS (em kg/dia), logo os animais que consumiram mais nutrientes apresentaram maior síntese ruminal de microrganismos. De acordo com Van Soest (1994), aumentos na ingestão proporcionam maior escape de microrganismos para o duodeno.

Tabela 10 – Médias e coeficientes de variação (CV) obtidas das excreções urinárias de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU) e derivados de purinas (DP), da porcentagem de alantoína nos DP (ALA:DP), das purinas absorvidas (Pabs), do nitrogênio microbiano (Nmic), da proteína microbiana sintetizada no rúmen (PBmic), da eficiência microbiana (Efic) e do pH ruminal quatro horas após a alimentação (pH rúmen), para os pesos médios dos animais

Itens	Peso médio (kg)					CV (%)
	523	453	315	235	118	
ALA ¹	148,16 ^a	145,55 ^a	126,49 ^{ab}	111,57 ^b	75,21 ^c	14,33
ACU ¹	16,68 ^a	12,09 ^b	12,74 ^b	10,84 ^b	8,35 ^b	20,35
DP ¹	164,84 ^a	157,64 ^a	139,23 ^{ab}	122,40 ^b	83,56 ^c	13,20
ALA:DP	89,63	92,38	90,75	91,04	89,95	2,09
Pabs ²	163,59 ^a	158,18 ^a	142,50 ^a	126,94 ^a	88,34 ^b	14,69
Nmic ²	102,96 ^a	99,55 ^a	89,68 ^a	79,90 ^a	55,60 ^b	14,69
PBmic ²	643,50 ^a	622,21 ^a	560,53 ^a	499,35 ^a	347,49 ^b	14,69
Efic ³	128,93	134,14	133,60	143,96	156,81	11,69
pH rúmen	6,52 ^a	6,58 ^a	6,57 ^a	6,78 ^a	6,10 ^b	3,43

a, b, c, d – médias, na linha, seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Newman Keuls a 5% de probabilidade;

¹ - mmol/dia;

² - g/dia;

³ - g de PBmic/kg de NDT consumido.

A eficiência de síntese microbiana não diferiu entre os tratamentos, porém observaram-se diferenças numéricas entre os animais de diferentes faixas de peso. Segundo Clark et al. (1992), as disponibilidades ruminais de energia e N são os fatores nutricionais que mais afetam o crescimento microbiano, sendo assim, a relação volumoso:concentrado dietética poderia influir no crescimento microbiano em razão da variação na disponibilidade de energia. A taxa de passagem é influenciada pelo consumo de alimento bem como por propriedades intrínsecas deste, como tamanho de partícula e densidade, desta forma, a taxa de passagem de concentrados é reconhecidamente superior à de volumosos. Taxas mais rápidas de crescimento, devido a maior disponibilidade de nutrientes, associadas à passagem mais rápida de microrganismos para o abomaso, podem reduzir a reciclagem de energia e N no rúmen, decorrente da menor lise celular, reduzindo assim, os requisitos de manutenção microbiana, fornecendo ainda mais nutrientes para utilização no crescimento microbiano (Clark et al., 1992)

podendo incrementar a eficiência microbiana. Desta forma, a utilização de uma eficiência da produção microbiana constante pode ocasionar erros na predição do fluxo de proteína microbiana.

A proporção de alantoína nos DP não diferiu entre os tratamentos, sendo em média de 91,75%. Esse valor aproximou-se dos encontrados por Rennó (2003) de 91,70 e 93,36% em dois experimentos. Valores inferiores, de 87,90; 87,17 e 85% foram encontrados por Leão (2002), Rennó et al. (2000) e Verbic et al. (1990), respectivamente.

Conclusões

A presença de cinzas e proteína na FDN subestima a digestibilidade da FDN e superestima a dos CNF, porém não afeta o NDT.

A concentração de NUS varia de acordo com o consumo de MS, PB, PDR e, conseqüentemente, com o peso vivo, logo não pode ser considerada constante para avaliação do *status* protéico.

A coleta de urina *spot* pode ser utilizada para estimar a excreção diária de derivados de purinas e de uréia em novilhas, independentemente do peso vivo.

Referências Bibliográficas

BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.11, p.2964-2971, 1997.

CAMERON, M.R.; KLUSMEYER, T.H.; LYNCH, G.L. et al. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum and performance of cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.4, p.1321–1336, 1991.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details (Occasional publication). INTERNATIONAL FEED

- RESOURCES UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p. 1992.
- CHEN, X.B.; MEJIA, A.T.; KYLE, D.J. et al. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in *spot* urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.125, p.137-143, 1995.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2304-2323, 1992.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.
- HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3630-3644, 1991.
- LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 57p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.
- MAGALHÃES, K.A. **Níveis de uréia ou casca de algodão na alimentação de novilhos de origem leiteira em confinamento**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 90p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- MARTÍN-ÓRUE, S.S.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. et al. Microbial nitrogen production in growing heifers: direct measurement of duodenal flow of purine bases versus urinary excretion of purine derivatives as estimation procedures. **Animal Feed Science Technology**, v.88, p.171-188, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.:National Academy Press, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7. ed. Washinton, D.C: National Academic Press. 2001. 381p.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Predicting feed intake of food-producing animals**. Washington, D.C.:National Academy Press, 1987. 96p.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- PIMPA, O.; LIANG, J.B.; JELAN, Z.A. et al. Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah-Kelantan cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p.203-214, 2001.
- PRESTON, R.L.; SCHNAKENBERG, D.D.; PFANDER, W.H. Protein utilization in ruminants. I. Blood urea nitrogen as affected by protein intake. **Journal of Nutrition**, v.68, p.281-288, 1965.
- RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois de proteína**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 252p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...**Santa Maria: SBZ, 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Indicadores interno ou externo e efeito da contaminação da fibra em detergente neutro sobre a digestibilidade aparente total em novilhos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...**Recife: SBZ, 2002. (CD-ROM). Nutrição de ruminantes.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C., 2002. **Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa: Editora UFV – Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-265, 1994.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 1998. 150p.
- VAGNONI, D.B.; BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. et al. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G. A; VALADARES FILHO, S. C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VALADARES FILHO, S.C.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CAPPELLE, E.R. **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos - CQBAL 2.0**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Suprema Gráfica Ltda. 2002. 297p.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.
- VIEIRA, P. F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Viçosa: UFV,1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999. p. 176-185.

RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de quatro experimentos distintos, sendo um conduzido no Laboratório Animal do Departamento de Zootecnia e três realizados na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL), da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG.

No primeiro, foram utilizados quatro novilhos de grau de sangue predominantemente Holandês, fistulados no rúmen, com peso médio de 259 kg, objetivando-se avaliar o efeito de níveis de casca de algodão na dieta sobre os consumos e digestibilidades totais e parciais da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_cp) e carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNF_cp), o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT), a produção de proteína microbiana, a concentração de nitrogênio uréico no soro (NUS) e de amônia no rúmen e a excreção de compostos nitrogenados na urina. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4X4, sendo quatro animais, quatro períodos experimentais e quatro tratamentos. Os quatro tratamentos constituíram-se de dietas com níveis crescentes de casca de algodão peletizada (0, 10, 20 e 30%), em substituição (na base da matéria seca) à silagem de capim-elefante como volumoso, sendo a dieta total constituída de 60% de volumoso e 40% de concentrado, contendo em torno de

13% de PB, na base seca. Verificou-se que os níveis de casca de algodão aumentaram linearmente os consumos diários todos os nutrientes, tanto em kg quanto em % do peso vivo. As análises de variância não evidenciaram influência dos diferentes tratamentos sobre o pH e concentrações de amônia ruminais, as digestibilidades totais e parciais dos nutrientes e conseqüentemente, não houve efeito sobre o teor de NDT das dietas que foi, em média, 59,53%. O NDT calculado da casca de algodão foi de 55,52%. A concentração de NUS e a excreção urinária de uréia (em mg/kgPV) diminuíram enquanto a excreção urinária de derivados de purinas (DP) aumentou linearmente com a inclusão de casca de algodão nas dietas.

No segundo Experimento, objetivou-se avaliar o efeito do nível de produção de leite sobre o consumo e a digestibilidade da MS, MO, EE, PB, FDNcp e CNFcp, o consumo de NDT e de proteína degradável no rúmen (PDR), a produção de proteína microbiana, a concentração de nitrogênio no rúmen e a excreção de compostos nitrogenados na urina. Avaliaram-se as concentrações NUS e nitrogênio uréico no leite (NUL), de animais de diferentes níveis de produção de leite. Foram comparadas as metodologias de coleta *spot* e de coleta total de urina e o uso de duas equações (Gonzalez-Ronquillo et al., 2003 ou Orellana Boero et al., 2001) para quantificação do fluxo de N microbiano. Também foram comparadas as digestibilidades da FDN e dos CNF, corrigidos ou não para cinzas e proteína. Foram utilizadas 15 vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, alocadas em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos em função da produção de leite. A produção de leite média foi de 5,88, 18,54 e 32,6 kg/dia para os tratamentos ALTA, MÉDIA e BAIXA. A dieta foi constituída de silagem de milho à vontade e um kg de concentrado para cada três kg da média de leite produzido. Os consumos de todos os nutrientes, exceto a FDNcp, foram influenciados pela produção de leite. As digestibilidades da MS, MO e o teor de NDT não diferiram entre os tratamentos, enquanto as digestibilidades da PB e FDNcp, foram influenciadas pelo nível de produção sendo maior e menor, respectivamente, no tratamento ALTA. A presença de cinzas e proteína na FDN subestimou a digestibilidade da FDN e superestimou a dos CNF. Os teores de NUS e NUL e a excreção de compostos nitrogenados na urina foram altamente correlacionados e superiores

nos animais mais produtivos, indicando que a concentração ótima varia com o nível de produção de leite. A produção de proteína microbiana não diferiu entre as metodologias de coleta de urina *spot* e total, nem pela utilização das duas equações supracitadas, sendo inferior nos animais menos produtivos.

No terceiro, 22 novilhas, com grau de sangue predominantemente Holandês, com diferentes pesos, foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos em função do peso vivo inicial. O peso médio foi de 523, 453, 315, 235 e 118 kg para os tratamentos I, II, III, IV e V, respectivamente. A alimentação foi constituída de silagem de milho à vontade e 1,5 kg de concentrado por dia para as novilhas dos tratamentos I, II, III e IV, e dois kg de concentrado para as novilhas do tratamento V. Os objetivos foram similares aos do segundo Experimento, sendo comparadas as equações de Verbic et al. (1990) e Orellana Boero et al. (2001). Os consumos de todos os nutrientes (em kg/dia) foram positivamente correlacionados com o peso dos animais. Quando expresso em percentagem do peso das novilhas, o consumo de MS foi negativamente correlacionado com o peso dos animais. As digestibilidades da MS, MO e o teor de NDT não diferiram entre os tratamentos, enquanto as digestibilidades da PB e FDNcp, foram distintas entre os tratamentos, sendo maior e menor, respectivamente, no tratamento V. A presença de cinzas e proteína na FDN subestimou a digestibilidade da FDN e superestimou a dos CNF. Os teores de NUS e a excreção de N e de uréia na urina (em mg/kgPV) foram altamente correlacionados e superiores nas novilhas menores, e variaram com o peso vivo e com o consumo de PB e de PDR. A produção microbiana não diferiu entre as metodologias de coleta de urina *spot* ou total, nem pela utilização das duas equações supracitadas, sendo inferior nas novilhas menores.

No quarto Experimento, avaliaram-se a excreção de creatinina em vacas lactantes obtida por quatro tempos de duração da coleta total de urina (seis, 12, 18 e 24 horas). Foram utilizadas 15 vacas, com produção de leite média de 24 kg/dia, em delineamento em blocos ao acaso. Não foram encontradas diferenças entre as estimativas da excreção diária de creatinina estimadas pelos tempos de coleta de seis, 12 e 18 horas com a observada em 24 horas, logo a excreção de creatinina nos períodos diurno e noturno foi similar. A

excreção diária média de creatinina, pelas vacas do quarto Experimento, foi de 24,07 mg/kgPV.

Também foram avaliadas as excreções de creatinina nos demais experimentos. Os níveis de casca de algodão não influenciaram a excreção de creatinina nos novilhos do primeiro Experimento, que foi de 27,99 mg/kgPV, em média. A excreção de creatinina pelas vacas do segundo Experimento não foi afetada pelo nível de produção de leite, apresentando média de 24,04 mg/kgPV. No terceiro Experimento, a excreção de creatinina (em mg/kgPV) pelas novilhas de origem leiteira foi negativamente correlacionada com o peso vivo das mesmas.

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A casca de algodão mostrou-se um bom volumoso alternativo, podendo ser fornecida até o nível de 30% na MS total na dieta de novilhos de origem leiteira;
- A presença de cinzas e proteína na FDN subestima a digestibilidade da FDN e superestima a dos CNF, porém não altera o NDT.
- A coleta de urina *spot* pode ser utilizada para estimar a excreção urinária de compostos nitrogenados e a produção microbiana em vacas de diferentes níveis de produção e em novilhas de diferentes pesos;
- A concentração ótima de NUL ou NUS varia com o nível de produção de leite;
- A concentração ótima de NUS varia em novilhas de diferentes pesos, devido à diferença no consumo de MS e PB;
- A excreção de creatinina é constante e não é influenciada por fatores dietéticos, sendo em média, de 24,05 mg/kgPV, em vacas lactantes;
- A excreção de creatinina (EC), em função do peso vivo, é variável em novilhas de origem leiteira em crescimento, de acordo com a equação:
$$EC(\text{mg/kgPV}) = 32,27 - 0,01093 \cdot PV(\text{kg}).$$