FONTES DE COMPOSTOS NITROGENADOS PARA VACAS LACTANTES EM CONFINAMENTO

GEÓGENES DA SILVA GONÇALVES

2013

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

FONTES DE COMPOSTOS NITROGENADOS PARA VACAS LACTANTES EM CONFINAMENTO

Autor: Geógenes da Silva Gonçalves
Orientador: Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Março de 2013

GEÓGENES DA SILVA GONÇALVES

FONTES DE COMPOSTOS NITROGENADOS PARA VACAS LACTANTES EM CONFINAMENTO

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador:
Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira

Co-Orientadores:
Prof. Dr. Antonio Jorge Del Rei Moura
Prof. Dr. Fabiano Ferreira da Silva

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Março de 2013

636.085 Gonçalves, Geógenes da Silva.

G626f Fontes de compostos nitrogenados para vacas lactantes em confinamento. / Geógenes da Silva Gonçalves. – Itapetinga-BA: UESB, 2013.

87f.

Tese do Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB - C*ampus* de Itapetinga. Sob a orientação do Prof. D.Sc. Márcio dos Santos Pedreira e co-orientação do Prof. D.Sc. Antonio Jorge Del Rey Moura e Prof. D.Sc. Fabiano Ferreira da Silva.

1. Nutrição animal - Cana-de-açúcar - Ureia. 2. Vacas leiteiras - Alimentação - Compostos nitrogenados. 3. Leite - Produção. 4. Vacas leiteiras - Confinamento – Alimentação. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, C*ampus* de Itapetinga. II. Pedreira, Márcio dos Santos. III. Moura, Antonio Jorge Del Rey. IV. Silva, Fabiano Ferreira da. V. Título.

CDD(21): 636.085

Catalogação na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Nutrição animal - Cana-de-açúcar - Ureia
2. Vacas leiteiras - Alimentação - Compostos nitrogenados
3. Leite – Produção
4. Vacas leiteiras - Confinamento – Alimentação

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

DECLARAÇÂO DE APROVAÇÃO

Título**: "**Fontes de compostos nitrogenados para vacas lactantes em confinamento**".**

Autor: Geógenes da Silva Gonçalves
Orientador : Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira
Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Jorge Del Rei Moura
Prof. Dr. Fabiano Ferreira da Silva

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

_____
Prof. Dsc. Márcio dos Santos Pedreira – UESB

_____
Prof. Dsc. Herymá Giovane Oliveira Silva – UESB

_____
Profª. Dsc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira – UESB

_____
Prof. Dsc. Dimas Oliveira Santos – UESB

_____
Prof. Dsc. José Augusto Gomes Azevedo – UESC

Data da defesa: 26 de março de 2013.

“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra, sua mãe.”

Leonardo da Vinci

Ao meu DEUS, a Ele seja toda honra e toda glória;

A toda minha família;

Aos meus Pais, Diógenes Carneiro Gonçalves e Maria Angélica da Silva Gonçalves, proteção e ensinamentos, base para trilhar os caminhos da vida;

Ao meu Irmão Diógenes Junior, pela amizade, confiança e incentivo;

À minha cunhada Ana Verena, pela amizade;

Aos meus sobrinhos Matheus e Guilherme, pela alegria que trazem nos momentos de distração;

À minha esposa, Jamille Oliveira Campos Gonçalves, pelo momentos compartilhados de alegrias e tristezas;

À minha filha MariaLuiza, minha inspiração.

DEDICO...

Ao meu orientador, Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira, pelo incentivo, motivação, como forma de agradecimento pelo tempo de convivência

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que até aqui tem me ajudado, protegendo, cuidando da saúde e iluminando o caminho em cada conquista, sendo ele merecedor de todo nosso louvor;

À minha família, que sempre procurou me ajudar, da melhor maneira possível, principalmente nos momentos mais difíceis, não me deixando desanimar nunca;

Ao professor Márcio dos Santos Pedreira, pelas orientações sempre precisas, pelo apoio, incentivo e amizade;

Ao Programa de Pós–Graduação em Zootecnia e seus professores, pelos ensinamentos;

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida;

Ao Co-orientador Professor Jorge Del Rei, pela grande amizade e ensinamentos;

Ao Professor Jair Marques, pelo incentivo (*in memoriam*);

Ao Professor Fabiano, pelo apoio e experiência;

À UESB, pela oportunidade de estudo;

À empresa Alltech do Brasil Ltda, pelo apoio financeiro concedido;

Ao colega Lucas, por ter cedido gentilmente a Fazenda para a realização do experimento;

Aos amigos da república, Antonio, Dicastro, Aries, Vinicius e Danilo, pela convivência e amizade.

Aos colegas Rodrigo, Alex, Evani, Pablo, Jobel, Paulo Ferraz, Antonio (Tonhão), Luziane, Mazzile, Leile, Beatriz, Edileusa, Evanilton e João Gonçalves;

À Adilma, pelas correções gramaticais;

A todos os funcionários, em especial, ao José do laboratório, por toda dedicação e amizade;

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado a Todos!!!

BIOGRAFIA

Geógenes da Silva Gonçalves, filho de Diógenes da Silva Gonçalves e Maria Angélica da Silva Gonçalves, nasceu em 22 de julho de 1977, em Salvador, Bahia.

Em 1998 iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, finalizando o mesmo em 2004.

Em março de 2005 iniciou o curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Mestrado em Ciências Agrárias, na Universidade Federal do Recôncavo Baiano – UFRB, Concentração em Produção animal, finalizando em de março de 2007.

Em março de 2009 iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Doutorado em Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Concentração em Produção de Ruminante, finalizando em 24 de março de 2013.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS..... vii

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....ix

RESUMO.....x

ABSTRACT.....xi

CAPÍTULO 1

Consumo e digestibilidade, produção e composição do leite em vacas alimentadas com diferentes fontes de compostos nitrogenados.

Resumo..... 1
Abstract..... 2
Introdução..... 3
Material e Métodos..... 5
Resultado e Discussão..... 9
Conclusão..... 17
Referências 18

CAPÍTULO 2

Metabolismo do nitrogênio e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com cana-de-açúcar e compostos nitrogenados.

Resumo..... 23
Abstract..... 24
Introdução..... 25
Material e Métodos..... 28
Resultado e Discussão..... 33
Conclusão..... 43
Referências 44

CAPÍTULO 3

Fontes de ureia na alimentação em vacas lactantes: Parâmetros sanguíneos e bem estar animal.

Resumo..... 50
Abstract..... 51
Introdução..... 52
Material e Métodos..... 54
Resultado e Discussão..... 60
Conclusão..... 69
Referências 70

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais..... 06

Tabela 2 Médias de consumo de nutrientes em peso metabólico, significância dos contrates em função das dietas experimentais, observados em vacas lactantes alimentadas com diferentes fontes de nitrogênio..... 09

Tabela 3 Médias de digestibilidade da matéria seca e de nutrientes, significância dos contrates em função das dietas experimentais, observados em vacas lactantes alimentadas com diferentes fontes de nitrogênio..... 12

Tabela 4 Médias de produção e composição dos leites, significância dos contrates em função das dietas experimentais, observados em vacas lactantes alimentadas com diferentes fontes de nitrogênio..... 14

CAPÍTULO 2

Tabela 1 Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais..... 29

Tabela 2 Médias de ingestão de nitrogênio total (INT), excreções de nitrogênio no leite (ENL), excreções de nitrogênio na urina (E.N.U.) e excreções de nitrogênio nas fezes (E.N.F.), balanço de nitrogênio (B.N.) e total de nitrogênio excretado (T.N.E) observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais..... 33

Tabela 3 Médias de porcentagem das excreções de nitrogênio de leite (E.N.L.), excreções de nitrogênio da urina (E.N.U.) e excreções de nitrogênio das fezes (E.N.F.), nitrogênio retido (NR) e nitrogênio total excretado (NTE), observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais..... 35

Tabela 4 Médias de valores referentes à concentração de ureia no leite, nitrogênio ureico no leite, ureia sérica, nitrogênio ureico no soro, ureia na urina, nitrogênio ureico na urina e creatinina, observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais..... 36

Tabela 5 Médias de excreções de derivados de purina, síntese de nitrogênio, proteína microbiana e eficiência microbiana em vacas lactantes segundo as dietas experimentais..... 40

CAPÍTULO 3

Tabela 1 Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais..... 55

Tabela 2. Parâmetros sanguíneos iniciais dos animais observados em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais..... 57

Tabela 3 Valores de referência dos animais de acordo com as análises laboratoriais..... 58

Tabela 4 Médias de valores referentes às hemácias, hematócrito (VG%), hemoglobina, volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM),

observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais..... 60

Tabela 5 Médias de valores referentes a leucócitos, Neutrofilos segmentados, neutrófilos bastonetes, linfócitos, eusinófilos e plaquetas, observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais..... 62

Tabela 6 Médias de valores referentes à amônia, às proteínas totais, à albumina, à globulina, à gamaglutamiltransferase (GGT), ao lactato desidrogenase (LDH), à glicemia e ao aspartato amino transferase (AST), observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais..... 65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST aspartato amino transferase
CCHOT Consumo de carboidratos totais
CCNF Consumo de carboidratos não fibrosos
CDCNF Coeficiente de digestibilidade aparente de carboidratos não fibrosos
CDEE Coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo
CDFDN Coeficiente de digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro
CDMS Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca
CDPB Coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta
CEE Consumo de extrato etéreo
CFDN Consumo de fibra em detergente neutro
CMS Consumo de matéria seca
CNDT Consumo de nutrientes digestíveis totais
CNF Carboidratos não fibrosos
CPB Consumo de proteína bruta
EE Extrato etéreo
FDA Fibra em detergente ácido
FDN Fibra em detergente neutro
FDNi Fibra em detergente neutro indigestível
GGT gamaglutamiltransferase
g/kg0,75 Gramas por kg de peso metabólico
MS Matéria seca
N Nitrogênio
NDT Nutrientes digestíveis totais
PB Proteína bruta
PV Peso vivo

RESUMO

GONÇALVES, Geógenes da Silva. Fontes de compostos nitrogenados para vacas lactantes em confinamento Itapetinga-BA: UESB, 2013. 86p. (Tese – Doutorado em Zootecnia – Produção de Ruminantes).*

Esta pesquisa foi realizada para avaliar o consumo, o coeficiente de digestibilidade na dieta, a produção e composição do leite, o balanço de nitrogênio, a síntese de proteína microbiana, parâmetros séricos sanguíneos (hematológicos e bioquímicos) de vacas leiteiras. Os tratamentos foram constituídos por rações contendo diferentes fontes de nitrogênio: FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%, e cana de açúcar. Foram utilizadas 8 vacas mestiças Holandês x Zebu, distribuídas aleatoriamente, alocadas a uma sequência de quatro tratamentos, em delineamento do tipo quadrado latino 4x4, realizados simultaneamente e com duração total de 84 dias. Não houve efeito nos tratamentos para as médias dos coeficientes de consumo de matéria seca, fibra em detergente neutro, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, nutrientes digestíveis totais na dieta das vacas. O coeficiente de digestibilidade da matéria seca apresentou valor médio de 69,43%, o da fibra em detergente neutro com média de 51,07%. A produção de leite média de produção de leite foi de 9,609 Kg. Não houve diferenças (P>0,05) entre os tratamentos para a porcentagem de proteína bruta do leite. As variáveis de consumo de N, balanço de nitrogênio retido, excreções de nitrogênio no leite, na urina e nas fezes, e total de N excretado, com resultados das médias referentes a 340,27 g/dia, 136,73 g/dia, 43,25 g/dia, 53,17 g/dia, 103,54 g/dia, 199,96 g/dia, respectivamente. A concentração de ureia no leite e de nitrogênio ureico no leite é semelhante entre os tratamentos (P<0,05), com resultados das médias referentes a 29,94 mg/dL, 13,95 mg/dL, respectivamente. As médias da excreção urinária de ureia e de nitrogênio ureico foram de 9,28 mg/dL e 4,32 mg/dL, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados referentes à concentração de ureia sérica e de nitrogênio ureico no soro entre os tratamentos foram de 50,49 mg/dL, 23,73 mg/dL. Os resultados encontrados para variáveis na excreção de derivados de purina, alantoína, purinas absorvíveis, nitrogênio microbiano, proteína microbiana e relação proteína microbiana e nutrientes digetíveis totais foram semelhantes entre os tratamentos (P<0,05); as médias encontradas foram 321,68 mmol/dia, 296,35 mmol/dia, 334,61 mmol/dia, 210,6 g/dia, 1316,27 g/dia, 127,36 g/kg, respectivamente. As variáveis na concentração sanguínea de leucócitos, linfócitos e eusinófilos entre as dietas (P<0,05) apresentaram médias de 21,734; 8445,3; 1106,5; 9420,4; 2370,98 mm³, respectivamente. Os resultados para números de plaquetas apresentaram média de 343,52 mm³. As variáveis para a amônia, as proteínas totais, a albumina, a globulina, a gamaglutamiltransferase, o lactato desidrogenase, a glicemia e o aspartato amino transferase apresentaram resultados semelhantes entre as dietas (P<0,05). As médias encontradas foram 322,07 µMol/L, 6,799 g/dL 2,6 g/dL 4,199 g/dL 11,978 U/L 1210,28 U/L 67,97 mg/dL, respectivamente.

Palavras-chave: cana-de-açúcar, ureia convencional, ureia encapsulada, vacas de leite**.**

---

*Orientador: Márcio dos Santos Pedreira, *D.Sc*., UESB. Co-orientadores: Antonio Jorge Del Rei Moura, *D.Sc*., UESB e Fabiano Ferreira da Silva, *D.Sc*., UESB.

ABSTRACT

GONÇALVES, Geógenes da Silva. Sources of nitrogenous compounds for confined lactating cows. Itapetinga-BA: UESB, 2013. 86p (Thesis – Doctor's degree in Animal Science - Production of Ruminants).*

Abstract: The aim of this study was to evaluate intake, diet digestibility coefficient, milk production and composition, nitrogen balance, microbial protein synthesis and hematological and biochemical blood serum parameters of dairy cows. Treatments consisted of feed prepared with different nitrogen sources: SM = soybean meal; SRU 0 = conventional urea (CU) 100%/slow release urea (SRU) 0%; SRU 44 = CU 56%/SRU 44%; SRU 88 = CU 12%/SRU 88%, and sugar cane. Eight crossbred cows (Holandês x Zebu), were randomly assigned to for simultaneous treatments distributed in two 4 x 4 Latin squares during 84 days. There was no treatment effect on mean intake coefficients of dry matter, neutral detergent fiber, organic matter, crude protein, ethereal extract and total digestible nutrients. Dry matter and neutral detergent fiber digestibility coefficient presented an average value of 69.43% and 51.07%, respectively. Average crude protein digestibility was 65,43% Average milk production was 9.609 kg. A retained nitrogen balance, nitrogen excretion in milk, urine, feces and total N excretion among diets (P<0.05), and the average results were 340.27 g/day, 136.73 g/day, 43.25 g/day, 53.17 g/day, 103.54 g/day, and 199.96 g/day, respectively. The variable percentages of urine and total nitrogen excretion were similar when diets were compared (P<0.05), and the average results were 16.24 and 60.71 (%), respectively. Average retained N was 39.28%. Urea concentration and ureic nitrogen in milk were similar for all treatments (P<0.05), and the average results were 29.94 mg/dL and 13.95 mg/dL, respectively. Average urinary urea and nitrogen excretion was 9.28 mg/dL and 4.32 mg/Dl, respectively. The results for serum urea and ureic nitrogen were 50.49 mg/dL and 23.73 mg/dL, respectively. The results found for the excretion of purine derivatives, alantoine, absorbable purines, microbial nitrogen, microbial protein and the relation between microbial protein and digestible nutrients was similar for all treatments (P<0.05). The mean values obtained were 321.68 mmol/day, 296.35 mmol/day, 334.61 mmol/day, 210.6 g/day, 1316.27 g/day, and 127.36 g/kg, respectively. The results for the numbers of red blood cells had an average of 6.15 million / mm ^{3}. No significant differences for the variables mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin concentration between diets (P <0.05). The averages were 42.365 pg, 32.35% respectively. The results for the replacement of the nitrogen sources soybean meal, 2.1% dry matter utilized in the diet were similar paras variables in the blood concentration of leukocytes, lymphocytes and eosinophils among treatments (P <0, 05). The averages were 21.734, 8445.3, 1106.5, 9420.4, 2370.98 mm ^{3}, respectively. The results for numbers of platelets had an average 343.52 mm ^{3}. Variables for ammonia, total protein, albumin, globulin, the gamma-glutamyltransferase, lactate dehydrogenase, glucose and aspartate amino transferase showed similar results between diets (P <0.05). The averages were found 322.07 mmol / l, 6.799 g / dl 2.6 g / dl 4.199 g / dl 11.978 U / L 1210.28 U / L 67.97 mg / dL, respectively.

Keywords: sugarcane, conventional urea, slow-release urea, dairy cattle.

---

*Adviser: Márcio dos Santos Pedreira, *D.Sc*., UESB. Co-advises: Antonio Jorge Del Rei Moura, *D.Sc.*, UESB and, Fabiano Ferreira da Silva *D.Sc*., UESB.

CAPÍTULO I

Consumo e digestibilidade, produção e composição do leite em vacas alimentadas com diferentes fontes de compostos nitrogenados.

Resumo: Objetivou-se, avaliar o efeito de duas diferentes fontes de ureia em dietas de vacas leiteiras sobre o consumo, a digestibilidade aparente dos nutrientes e a produção e composição do leite. Utilizaram-se oito vacas mestiças Holandês x Zebu. As vacas foram confinadas sendo distribuídas aleatoriamente, alocadas a uma sequência de quatro dietas experimentais, em delineamento distribuído em dois quadrados latino 4x4, realizados simultaneamente. FS - farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%. Os animais receberam dietas contendo 70% de volumoso (cana-de-açúcar) e 30% de concentrado. Os períodos experimentais foram de 21 dias, sendo o período compreendido entre o 1° e o 14° dia considerado de adaptação dos animais às dietas fornecidas e o período entre o 15° ao 21° dia, o de coleta de amostras, com duração total de 84 dias. Não houve efeito significativo nas dietas experimentais, para as médias dos coeficientes de consumo de matéria seca, fibra em detergente neutro, matéria orgânica, proteína bruta e nutrientes digestíveis totais. O coeficiente de digestibilidade da matéria seca apresentou valor médio de 69,43% e o da fibra em detergente neutro, uma média de 51,07%. A digestibilidade da proteína bruta obteve média de 65,43%. A média de produção de leite foi de 9,609 Kg, sendo menor ($P<0,05$), quando utilizado 100% da ureia convencional, quando comparada ao tratamento controle. Não houve diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos para a porcentagem de proteína bruta do leite.

Palavras–chave: consumo de matéria seca, ureia convencional, ureia encapsulada, vacas de leite.

Chapter I

Intake and digestibility, milk production and composition of cows fed different types of nitrogenous compounds

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of dairy cows' diet containing two different sources of urea on dry matter intake, nutrient apparent digestibility, and milk production and composition. Eight crossbred cows (Holandês x Zebu) were confined and randomly assigned to four sequential diets distributed in two 4 x 4 Latin squares simultaneously: SM = soybean meal; SRU 0 = conventional urea (CU) 100%/slow release urea (SRU) 0%; SRU 44 = CU 56%/SRU 44%; SRU 88 = CU 12%/SRU 88%. Animals were feed on diets containing sugar cane (70%) and concentrate (30%). The diets were offered to the animals during 21 days. The adaptation period lasted from day 1 to day 14 and samples were collected from day 15 to day 21. The total duration of the experiments was of 84 days. Dry matter, neutral detergent fiber, organic matter, crude protein, and total digestible nutrients had no significant effect on mean intake coefficients . Dry matter and neutral detergent fiber digestibility coefficient presented an average value of 69.43% and 51.07%, respectively. Average crude protein digestibility was 99.96%, which represents a small difference in digestibility for animals treated with 100% urea when compared to the treatment with 56.13% of CU and 43.77% of SRU. Average milk production was 9.609 kg. It decreased (P>0.05) and was significantly different compared to the control when 100% of CU was used. No significant differences in milk crude protein were observed (P>0.05) between treatments.

Keywords: conventional urea, dairy cattle, dry matter intake, slow-release urea.

1 - INTRODUÇÃO

A produção de leite tem aumentado continuamente nos últimos 40 anos, devido à seleção genética, às mudanças no manejo e na nutrição das vacas (Gumen et al., 2011). Segundo a FAO 2011 (*Food and Agriculture Organization*), o Brasil é o quinto maior produtor mundial de leite bovino, com 32.091.000 milhões de litros (FAO, 2011).

Os ruminantes podem ser considerados animais relativamente independentes da qualidade dos compostos nitrogenados consumidos porque são dotados de segmentos gástricos que evoluíram para acomodar populações complexas de microrganismos sob anaerobiose (Pereira et al., 2005).

Pesquisas sobre o uso de fontes de compostos nitrogenados para vacas leiteiras têm sido desenvolvidas, objetivando maximizar a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados dietéticos, melhorar o desempenho animal e reduzir as perdas de nitrogênio para o ambiente (Santos et al., 1998).

Devido aos custos dos farelos proteicos, é crescente o número de pecuaristas que utilizam o nitrogênio não proteico, em especial, a ureia, junto às misturas minerais, nos chamados “sais proteinados”, ou somado a outros alimentos, como cana-de-açúcar, melaço e silagem de milho (Kitamura et al., 2010).

O fornecimento adicional de compostos nitrogenados para animais consumindo forragens de baixa qualidade pode, por sua vez, permitir incremento no consumo voluntário da forragem e melhorar o balanço energético a partir dos carboidratos fibrosos da forragem, uma vez que estes favorecem o crescimento das bactérias fibrolíticas (Russel et al., 1992). A ampliação da taxa de degradação ruminal e a síntese de proteína microbiana resultam em maior aporte de nutrientes para o intestino e ácidos graxos voláteis para o metabolismo energético (Detmann et al., 2009).

A utilização da cana-de-açúcar como volumoso apresentou-se favorável à produção animal, visto que a cana amadurece durante a estação seca, eliminando a necessidade de armazenamento e todos os custos a ela associados (Gonçalves, 2006). Mesmo apresentando níveis de energia entre 2,0 para 2,4 Mcal / kg (Correia et al, 2003), a cana contém níveis de 2 a 5% de proteína bruta, por isso, é recomendada a suplementação da dieta com fontes disponíveis de nitrogênio (Huntington et al., 2006). A cana-de-açucar possui 55% de fibra em deteregente neutro e possui concentrações de fibra de baixa digestibilidade, o que pode provocar uma redução do consumo de

nutrientes pelo animal, em decorrência do decréscimo na taxa de passagem (Prado & Moreira, 2002).

A utilização do nitrogênio não proteico de liberação gradativa no rúmen pode ser uma estratégia para diminuir o uso de fontes de proteína verdadeira e de ureia pecuária, em dietas para ruminantes, reduzindo os riscos de intoxicação por ureia, além de aumentar o espaço para inclusão de ingredientes na dieta, substituir fontes de proteína verdadeira de alto custo e/ou disponibilidade limitada, e melhorar o sincronismo de nutrientes no rúmen (Souza et al., 2010).

A ureia protegida é fisicamente encapsulada por ceras vegetais (*Optigen®II, Alltech Inc., Nicholasville, USA*), visando reduzir a velocidade de liberação do N no rúmen. Já foram observados aumento na síntese microbiana *in vitro*, quando o *Optigen®II* substituiu a ureia (Harrison et al., 2006), e aumento na produção de leite, quando substituiu parcialmente o farelo de soja (Inostroza et al., 2010).

Objetivou-se avaliar o consumo, a digestibilidade, a produção e a composição de leite, em função de dietas com a substituição parcial do farelo de soja por ureia convencional e ureia encapsulada para vacas lactantes.

2-MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Paulistinha, localizada no município de Macarani, Bahia, e na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), no *campus* de Itapetinga, Bahia. Foram utilizadas 8 vacas mestiças Holandês x Zebu, de terceira ou quarta lactação, com produção anterior entre 3.000 e 4.000 kg ajustado para 305 dias. Apresentavam peso corporal de 445 kg ± 9 kg, e aproximadamente com 60 dias de lactação, no início do período experimental.

As vacas foram confinadas, sendo distribuídas aleatoriamente, alocadas a uma sequência de quatro dietas experimentais, em delineamento distribuído em dois quadrados latino 4x4, realizados simultaneamente. FS - farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%. Os períodos experimentais foram de 21 dias, sendo o período compreendido entre o 1° e o 14° dia considerado de adaptação dos animais às dietas fornecidas e o período entre o 15° ao 21° dia, o de coleta de amostras, com duração total de 84 dias. Os animais foram confinados em baias individuais cobertas com área de três metros quadrado com piso de areia, providas de comedouros e bebedouros.

As dietas foram calculadas para suprir as exigências de mantença, tendo em vista uma produção de 12 kg de leite/dia, com 3,5% de gordura, de acordo com o *Nacional Research Council* (NRC, 2001)**.**

Os animais receberam dietas contendo 70% de volumoso e 30% de concentrado (Tabela 1). O volumoso utilizado foi a cana-de-açúcar (*Saccharum*). Para compor os concentrados, foram utilizados: milho, trigo, soja, ureia e mistura mineral. As fontes de ureia utilizadas foram a ureia convencional e a ureia de liberação lenta − *Optigen®II (Alltech Inc., Nicholasville, USA),* tendo como controle dieta com farelo de soja. A mistura entre volumoso e o concentrado foi realizada no momento do fornecimento da alimentação.

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), variedade RB 72-454, foi colhida diariamente e triturada com folhas, em máquina forrageira, no momento do fornecimento. Semanalmente, amostras eram coletadas para determinação da MS e ajuste da relação volumoso:concentrado da dieta. A concentração média de açúcares solúveis (ºBRIX) do material analisado foi de 18,0°, analisado pelo refratômetro.

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Ingredientes % MS	DIETAS EXPERIMENTAIS			
	FS	ULL 0	ULL 44	ULL 88
Cana-de-açúcar	70,0	70,0	70,0	70,0
Milho grão moído	6,8	20,7	20,6	20,6
Farelo de Soja	22,0	6,0	5,9	5,9
Mistura mineral	0,7	0,7	0,7	0,7
Ureia	0	2,1	1,38	0,46
Ureia protegida	0	0	0,92	1,84
Calcário	0,5	0,5	0,5	0,5
% Nutriente				
MO	99,8	99,8	99,8	99,8
PB	15,8	17,5	16,5	15,6
NDT	72,5	71,5	71,9	71,1
FDN	48,9	52,0	50,2	49,3
EE	2,8	2,7	3,1	2,8
CNF	32,1	25,7	28,9	29,4

Mistura mineral:Cálcio - 165,00 g/kg;Fósforo - 78,00 g/kg; Enxofre - 26,00 g/kg; Magnésio - 20,00 g/kg; Sódio - 114,00 g/kg; Cobalto - 90,00 mg/kg; Cobre - 1.238,00 mg/kg; Cromo - 20,00 mg/kg; Ferro - 2.000,00 mg/kg; Iodo - 80,00 mg/kg; Manganês - 2.057,00 mg/kg; Selênio - 27,50 mg/kg; Zinco - 4.896,00 mg/kg; Flúor - 780,00 mg/kg .PB: proteína bruta; NDT: nitrogênio digestível total; FDN: fibra em detergente líquido; EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos. FS = farelo de soja. ULL = ureia de liberação lenta.

As dietas foram oferecidas pela manhã, às 7:00, e à tarde, às 16:00, em quantidade suficiente para resultar em, no mínimo, 10% do oferecido como sobra diária. As sobras foram coletadas e pesadas diariamente pela manhã, antes da primeira alimentação, para efeito de ajuste de consumo. O consumo diário de matéria natural foi determinado subtraindo-se do total de alimento oferecido, nas duas alimentações, o peso das sobras, do 14° ao 21° dia de cada período. As vacas foram pesadas no início e no final de cada período experimental, para estimar o consumo de nutrientes em porcentagem do peso corporal e para verificação da variação de peso corporal de cada tratamento.

Foram coletadas amostras diárias de cada ingrediente da dieta e das sobras, por animal e amostras compostas foram formadas, com base em quantidades de matéria natural. Essas amostras foram desidratadas em estufa de ventilação forçada, por 72h, a 55ºC, e trituradas em moinho do tipo *Thomas-Willey* com peneira de 1 mm. Uma subamostra foi desidratada em estufa de 105ºC, por 24 horas, para determinação da matéria seca definitiva. Posteriormente, o consumo de matéria seca foi calculado, multiplicando-se o valor de matéria seca da dieta pelo consumo diário de matéria natural.

As análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio total, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) dos alimentos, das sobras e das fezes foram realizadas segundo os procedimentos descritos por Silva e Queiroz (2002).

Para as análises de extrato etéreo, pesaram-se 2,0 g das amostras de cana, sobras, fezes e concentrados, as quais foram embrulhadas em guardanapos de papel-seda (14,0 cm × 14,0 cm), em forma de cartuchos. As extremidades foram grampeadas e as amostras foram levadas à estufa de ventilação forçada, a 55°C, por 12 horas, onde foram mantidas em dessecador até atingir temperatura ambiente e, posteriormente, pesadas (Silva & Queiroz, 2002).

Cada cartucho foi colocado nas conexões extratoras fracionadas soxlet e mantidos sob aquecimento por 5 horas, para extração da gordura com éter de petróleo, adicionando-se, aproximadamente, 30 mL de éter por cartucho, em balões redondos de fundo chato com capacidade para 500 mL. Após a extração, os balões foram novamente levados à estufa de ventilação forçada, a 55°C, por 12 horas. O teor de gordura foi obtido pela diferença entre os pesos dos balões, antes e após a extração, e depois foi corrigido para MS (Silva & Queiroz, 2002).

A porcentagem de carboidratos totais (CT) foi obtida pela equação: 100 – (%PB + %EE +%cinzas) e a porcentagem de CNF foi calculada como 100 - (%FDNcp + %PB + %EE + %cinzas) (Sniffen et al.,1992). Para o cálculo de NDT, utilizou-se a equação proposta pelo NRC (2001):

NDT = PBD + 2,25 x EED + FDNcpD + CNFD.

Em que:

PBD = proteína bruta digestível;

EED = extrato etéreo digestível

FDNcpD = fibra em detergente neutro (corrigida para cinzas e proteína) digestível

CNFD = carboidratos não-fibrosos digestíveis.

A coleta de fezes foi realizada durante dois dias alternados, em horários diferentes (7:00 e 17:00 horas), entre o 14º e 21º dia do experimento. As fezes de cada vaca foram congeladas ao longo das coletas e formaram uma amostra composta ao final de cada período. Os compostos, por vaca, foram desidratados, e o teor de FDN, cinzas e nitrogênio foram analisados.

Para estimar a digestibilidade aparente dos nutrientes, foi efetuada a coleta de fezes dos animais, entre o 14º e o 21º dias do experimento. Para se estimar a excreção fecal, foi utilizada a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), como indicador interno. Amostras dos alimentos fornecidos (cana e concentrado), sobras e fezes foram incubadas por 240 horas (Casali et al., 2008), em duplicata (20 mg MS/cm²), em sacos de tecido não-tecido (TNT - 100 g/m²) no rúmen de um novilho mestiço Holandês-zebu. Após este período, o material remanescente da incubação foi submetido à extração com detergente neutro (Mertens, 2002), para a quantificação dos teores de FDNi. Os valores de excreção fecal foram obtidos por intermédio da relação entre consumo e concentração fecal de FDNi.

A produção de leite foi avaliada do 14° ao 21° dia de cada período experimental. As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, às 6:00 e às 16:00 horas. As amostras serão compostas do leite das ordenhas da manhã e da tarde, sendo a proporção determinada pela produção nas respectivas ordenhas. Em cada amostra, foram determinados os teores de gordura, proteína e ureia no leite. Dessa amostra composta, a alíquota de 10 mL foi misturada a 5 mL de ácido tricloroacético a 25%, filtrada em filtro de papel, e o sobrenadante, armazenado a –20ºC, para posteriores análises de alantoína e ureia no leite desproteinizado (Valadares et al., 1999).

Os resultados foram interpretados estatisticamente e submetidos à análise de contrastes com 5% de significância de probabilidade, para determinar se as respostas obtidas comportavam-se com padrões lineares ou quadráticos. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos no programa SAS (2002).

3-RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 2 - Médias de consumo de nutrientes em relação ao peso metabólico **(kg/kg^{0,75})** significância dos contrates em função das dietas experimentais, observados em vacas lactantes alimentadas com diferentes fontes de nitrogênio.

Dietas experimentais	MS (kg/kg^{0,75})	FDN (kg/kg^{0,75})	MO (kg/kg^{0,75})	CNF (kg/kg^{0,75})	PB (kg/kg^{0,75})	EE (kg/kg^{0,75})	NDT (kg/kg^{0,75})
FS	**0,14**	**0,068**	**0,14**	**0,09**	**21,75**	**0,004**	**0,10**
ULL 0	**0,13**	**0,063**	**0,13**	**0,06**	**22,72**	**0,003**	**0,10**
ULL 44	**0,14**	**0,065**	**0,14**	**0,08**	**20,36**	**0,004**	**0,11**
ULL 88	**0,14**	**0,067**	**0,14**	**0,08**	**22,71**	**0,004**	**0,10**
Média	**0,14**	**0,066**	**0,14**	**0,08**	**21,89**	**0,004**	**0,10**
EPM	**0,0042**	**0,0022**	**0,0042**	**0,0040**	**0,9511**	**0,0002**	**0,0024**
L*	**0,2569**	**0,3029**	**0,2569**	**0,0817**	**0,9970**	**0,1616**	**0,5188**
Q*	**0,9167**	**0,9584**	**0,9167**	**0,3334**	**0,2361**	**0,7353**	**0,2804**
Contrastes							
1 vs. (2 + 3 + 4)	**0,3049**	**0,2422**	**0,3480**	**0,0327***	**0,9169**	**0,5900**	**0,7566**
2 vs. (3 + 4)	**0,2178**	**0,3010**	**0,2197**	**0,0191***	**0,5108**	**0,2366**	**0,8476**
1 vs. 2	**0,1271**	**0,1265**	**0,1456**	**0,0034***	**0,6416**	**0,2633**	**0,7225**
1 vs. 3	**0,8475**	**0,7419**	**0,9059**	**0,2841**	**0,6471**	**0,6367**	**0,6135**
1 vs. 4	**0,4386**	**0,3187**	**0,4811**	**0,2507**	**0,5049**	**0,5117**	**0,3742**
2 vs. 3	**0,1772**	**0,2210**	**0,1782**	**0,0356***	**0,9939**	**0,1194**	**0,4069**
2 vs. 4	**0,4299**	**0,5713**	**0,4333**	**0,0420***	**0,2620**	**0,6333**	**0,6186**
3 vs. 4	**0,5579**	**0,4983**	**0,5562**	**0,9351**	**0,2651**	**0,2652**	**0,1719**

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88. * = Significativo a 5% de probabilidade.

Não houve diferença significativa para os consumos calculados em peso metabólico de matéria seca, de fibra em detergente neutro, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo e de nutrientes digestíveis totais. As médias encontradas no consumo foi 0,14 Kg/PM; 0,066 Kg/PM 0,14 Kg/PM; g/PM 21,89; 0,004 g/PM; 0,10 Kg/PM, respectivamente. A inclusão de 2.1% de ureia no concentrado em substituição ao farelo de soja promoveu uma combinação satisfatória de carboidratos fermentáveis e dos compostos nitrogenados, promovendo um sincronismo ruminal e um equilíbrio dos diferentes compostos nitrogenados sem interferir no consumo de matéria seca. Aquino et al. (2007), ao trabalhar substituição parcial do farelo de soja pela ureia, não observaram efeito das dietas sobre o consumo de matéria seca em vacas leiteiras, indicando que não influenciou o consumo de alimento dos animais.

Alguns resultados encontrados na literatura indicam que a utilização de ureia na dieta pode diminuir o consumo de matéria seca das vacas. Lana et al. (1997) comprovaram que as dietas que continham ureia convencional apresentaram consumo

muito menor que as dietas sem ureia. Oliveira et al. (2001) e Silva et al. (2001) observaram diferença significativa no consumo de MS ao aumentarem de 0% para 2,1% os níveis de ureia na dieta. Feijó et al. (1997) e Silva et al. (1999) forneceram rações, nas quais o farelo de soja foi gradativamente substituído por ureia (0, 50 e 100%) no concentrado, e observaram redução no consumo, à medida que a ureia substituiu a soja. Entretanto, a inclusão de 1,9% da dieta total de ureia em substituição ao farelo de soja reduziu a eficiência alimentar (BRITO e BRODERICK, 2007), sugerindo que inclusões de NNP acima de recomendações tidas como clássicas, ao redor de 1% da dieta (REID, 1953), podem não ser vantajosas.

Em relação às dietas experimentais com a inclusão da ureia protegida, o consumo de matéria seca não diferiu das demais dietas experimentais, mesmo participando da dieta total na proporção de 2.1%. O encapsulamento do NNP no Optigen®II poderia ser um fator desfavorável à argumentação de que fatores sensoriais estariam envolvidos na resposta ao consumo. Highstreet et al. (2010) não observaram diferença significativa para o consumo de matéria seca entre a ureia convencional e a ureia de liberação lenta, em dietas suplementadas para vacas lactantes, com altos níveis de proteína solúvel. Silveira et al. (2012), quando utilizaram ureia de liberação lenta em vacas de leite, não observaram diferença significativa para o consumo de matéria seca.

Em relação à substituição parcial das dietas experimentais, a partir da inclusão à mistura da ureia, o consumo de FDN não diferiu significativamente. A porcentagem de ureia de 1% da dieta total em substituição parcial da soja não comprometeu o consumo. Magalhães et al. (2003) também não notaram diferença no consumo de FDN, quando forneceram dietas com níveis crescentes de ureia convencional (0; 0,65; 1,30 e 1,95% da matéria seca total).

A ureia convencional pode ser considerada controladora do consumo de suplemento, o que foi utilizado por Baroni et al. (2010). Para Alvarez Almora et al. (2012), a ureia é rapidamente hidrolisada ao chegar no rúmen, resultando em um aumento na concentração de amônia na primeira hora após a alimentação. Segundo Highstreet et al. (2010), o equilíbrio do consumo de matéria seca e fibra em detergente neutro em 2.1% do concentrado da dieta foi atribuído ao equilíbrio na concentração de amônia ruminal dos compostos nitrogenados e dos carboidratos fermentáveis.

O menor consumo de carboidrato não fibroso deu-se ao utilizar 100% de ureia convencional, equivalente a 0,06 Kg/PM, havendo diferença significativa quanto aos outros tratamentos. A substituição parcial dos tipos de ureia pela soja afetou o consumo

de carboidrato não fibroso, o que indica um efeito positivo, quando se adiciona a ureia protegida à ração. O maior consumo de carboidrato não fibroso foi o tratamento controle, podendo ser atribuído devido ao aumento na porcentagem de proteína não degradável no rúmen. Para Franco et al. (2004), os principais fatores que afetam a degradabilidade da proteína são o pH, $N\text{-}NH_3$ ruminal, a taxa de passagem e a degradação da matéria orgânica da forragem. Mudanças bruscas no pH ruminal podem cessar a atividade microbiana, assim como níveis de $N\text{-}NH_3$ ruminal baixos podem limitar a fermentação. Logo, supõem-se que a utilização dos compostos nitrogenados pode causar um efeito na degradação dos carboidratos. Segundo Valvasori et al. (1998), dietas à base de cana-de-açúcar apresentam alta concentração de protozoários. Desse modo, a estabilização de pH no rúmen também se deve à rápida assimilação dos carboidratos solúveis por esses microrganismos, contribuindo, assim, para garantir a integridade funcional do rúmen. Como a fração carboidrato não fibroso constitui um substrato quase completamente degradável no rúmen, sua redução do consumo pode apresentar impactos negativos sobre a síntese de proteína microbiana ruminal, principal fonte de aminoácidos digestíveis no intestino delgado em animais ruminantes. Mendonça et al. (2004), ao avaliar o consumo de cana-de-açúcar e ureia para vacas leiteiras, observaram um maior consumo de carboidratos não fibrosos, em que se verificou maior consumo para a dieta com cana-de-açúcar e relação volumoso:concentrado de 50:50, comparados a tratamentos com relação V:C de 60:40, o que pode ser justificado pela maior participação de alimento concentrado da dieta.

A substituição parcial de soja pelos tipos de ureia não afetou o consumo de proteína bruta entre as dietas. Entende-se, portanto, que o que influencia na quantidade de proteína bruta ingerida não são as fontes, e sim a composição proteica da dieta. Silveira et al. (2012), quando utilizaram ureia protegida em vacas de leite, não observaram diferença significativa para o consumo de proteína bruta. A inclusão de ureia protegida em substituição de soja pelos compostos nitrogenados não afetou o consumo de NDT, resultado corroborado por Valinote et al. (2005) e por Martins et al. (2011), que não encontrou diferenças no consumo de NDT, em vacas lactantes, utilizando concentrado, ureia e cana-de-açúcar.

Tabela 3 - Médias de digestibilidade da matéria seca e de nutrientes, significância dos contrates em função das dietas experimentais, observados em vacas lactantes alimentadas com diferentes fontes de nitrogênio.

Dietas experimentais	MS(%)	FDN (%)	MO (%)	CNF(%)	PB (%)	EE(%)
FS	67,49	48,96	68,1160	95,11	68,11	91,88
ULL 0	69,47	50,66	70,0196	90,38	62,69	84,24
ULL 44	68,62	50,17	72,3680	89,77	69,75	94,39
ULL 88	72,12	54,5	69,1161	87,47	62,78	92,47
Média	69,43	51,07	69,90	90,68	65,83	90,74
EPM	1,33	1,93	1,30	1,26	2,89	3,02
L*	0,1656	0,201	0,2214	0,8199	0,3420	0,3017
Q*	0,1888	0,3487	0,2145	0,2676	0,5906	0,7031
Contrastes						
1 vs. (2 + 3 + 4)	0,2374	0,399	0,2586	0,0077*	0,6246	0,8228
2 vs. (3 + 4)	0,6955	0,6348	0,7439	0,4104	0,5871	0,2095
1 vs. 2	0,4543	0,6758	0,4582	0,0652	0,4773	0,3612
1 vs. 3	0,6674	0,7657	0,1051	0,0398*	0,8286	0,7614
1 vs. 4	0,0891	0,1808	0,6955	0,0053*	0,4848	0,9432
2 vs. 3	0,7477	0,9039	0,3615	0,8031	0,3570	0,2290
2 vs. 4	0,3218	0,349	0,7236	0,2432	0,9903	0,3263
3 vs. 4	0,1937	0,2921	0,2100	0,3529	0,3632	0,8161

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88; * = Significativo a 5% de probabilidade.

O coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca não teve diferença entre as dietas experimentais (tabela 3) com média de 69,43%. Resultado superior aos valores observados por Teixeira et al. (2010), que encontraram 54,5% de digestibilidade da MS, em dietas à base de cana e concentrado, para vacas em lactação. Valinote et al. (2005) avaliaram o efeito de substituição de 82% da ureia tradicional por ULL, em dietas de bubalinos, sendo as digestibilidades da matéria seca de 70,22 e 72,25, respectivamente. Galo et al. (2003) relataram que a digestibilidade total de MS e PB em vacas da raça Holandesa em lactação aumentou, quando foi utilizada como fonte de NNP a ureia protegida com polímero, em dose de 0,77% da matéria seca. Resultados semelhantes foram obtidos por Xin et al. (2010), alimentando vacas lactantes com 1,7% de ureia protegida, que observaram que a ingestão de MS melhora a digestibilidade de nutrientes nas dietas com a ureia protegida em relação àqueles com ureia comum.

A digestibilidade da fibra em detergente neutro não foi influenciada pelas dietas experimentais, com média de 51,07% de FDN na MS. Exibindo valores superiores ao encontrado por Oliveira et al. (2011), quando utilizaram cana-de-açúcar

para vacas lactantes e observaram digestibilidade de FDN de 42,60%. Sinclair et. at. (2011), ao substituir o farelo de soja pela a ureia convencional e ureia protegida, em vacas lactantes, verificaram valores próximos de digestibilidade de 54% e 53%, utilizando ureia convencional e ureia protegida, respectivamente.

Alguns autores atribuem a redução na digestibilidade da FDN principalmente à menor taxa de digestão da fração fibrosa, potencialmente digestível, que aumenta o tempo de retenção da digestão do alimento no retículo-rúmen e reduz a taxa de passagem pelo trato gastrointestinal (Pereira et al., 2000; Magalhães, 2006). Segundo Rocha Junior et al. (2003), a lignina tem sido reconhecida como o principal componente químico da cana, que afeta a digestibilidade da parede celular, cujo efeito direto tem sido explicado por diferentes hipóteses, tais como: i) efeito tóxico aos microrganismos fibrolíticos ii) limitação da ação das enzimas fibrolíticas, resultantes da deposição dos polímeros de lignina com a maturidade da planta; e iii) impedimento físico causado pela ligação polissacarídeo lignina, o que limitaria o acesso das enzimas.

Highstreet et al. (2010) verficaram digestibildade aparente da FDN semelhantes com a inclusão de ureia de liberação lenta ou ureia em 2 grupos de vacas em lactação. Santos et al. (2011), trabalhando com 0,61% de Optigen-II, também não obteve diferença na digestibilidade da fibra em detergente neutro, quando utilizou ureia encapsulada, comparativamente à ureia convencional para vacas leiteiras. Com o uso da ureia protegida, esperava-se um suprimento de nitrogênio mais constante no rúmen, tendo como consequência a melhoria da digestibilidade da porção fibrosa da dieta, fato que não foi observado.

A média do coeficiente de digestibilidade aparente de carboidratos não fibrosos foi de 90,68%. Apesar de existirem diferenças no consumo de CNF, houve diferenças para a digestibilidade das dietas experimentais. O tratamento controle promoveu maior digestibilidade das frações de CNF, sendo de 95,11%. A inclusão de ureia protegida afetou em comparação ao grupo controle a menor digestibilidade de CNF entre as demais dietas experimentais. As frações de CNF são reconhecidas por apresentar coeficiente de digestibilidade verdadeiro de 95 a 98%, mesmo em condições tropicais (Van Soest, 1994; Detmann et al., 2006).

A média do coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta foi de 65,83%. A inclusão dos compostos nitrogenados não proporcionou alteração significativa na digestibilidade da proteína bruta. Gonçalves (2006) e Silva et al. (2009), utilizando a ureia protegida e avaliando a digestibilidade aparente dos nutrientes de

vacas lactantes, observaram que o coeficiente de digestibilidade da PB aumentou de acordo com o nível de proteína bruta na dieta, o que está relacionado ao maior teor de ureia na dieta. Fato que não foi observado neste trabalho.

O coeficiente de digestibilidade aparente média do extrato etéreo (EE) foi de 90,74%, não havendo diferenças entre as dietas experimentais. Esses resultados demonstram que a utilização dos compostos nitrogenados na proporção de 1% da matéria seca total não promoveu efeito na digestibilidade do EE. Oliveira et al. (2001), trabalhando com vacas de leite, observaram variação na digestibilidade extrato etéreo, para dietas com teores crescentes de ureia convencional (0; 0,7; 1,4 e 2.1% da MS total da dieta). Em valores superiores de compostos nitrogenados na dieta ocorre variação de digestibilidade de extrato etéreo.

Tabela 4 - Médias de produção e composição dos leites, significância dos contrates em função das dietas experimentais, observadas em vacas lactantes alimentadas com diferentes fontes de nitrogênio.

Dietas experimentais	Produção/leite (kg)	PB/leite (%)	Gordura leite (%)	Relação gord/prot
FS	**10,26**	**2,89**	**3,21**	**1,14**
ULL 0	**9,21**	**2,70**	**4,03**	**1,39**
ULL 44	**9,35**	**2,92**	**3,38**	**1,21**
ULL 88	**9,6**	**3,03**	**3,29**	**1,12**
Média	**9,6**	**2,88**	**3,57**	**1,22**
EPM	**0,18**	**0,10**	**0,25**	**0,08**
L*	**0,3664**	**0,5244**	**0,0429***	**0,3851**
Q*	**0,889**	**0,4635**	**0,1481**	**0,3605**
1 vs. (2 + 3 + 4)	**0,0287***	**0,9588**	**0,5456**	**0,5401**
2 vs. (3 + 4)	**0,5137**	**0,3104**	**0,3171**	**0,2350**
1 vs. 2	**0,0315***	**0,5279**	**0,2732**	**0,2283**
1 vs. 3	**0,0598**	**0,9381**	**0,8235**	**0,7229**
1 vs. 4	**0,1619**	**0,6684**	**0,9187**	**0,9093**
2 vs. 3	**0,761**	**0,4790**	**0,3919**	**0,3743**
2 vs. 4	**0,4089**	**0,2928**	**0,3601**	**0,2345**
3 vs. 4	**0,599**	**0,7255**	**0,9062**	**0,6514**

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88. * = Significativo a 5% de probabilidade.

A produção de leite foi menor (P<0,05), quando utilizou-se 100% da ureia convencional, e com diferença significativa, quando comparada ao tratamento controle. Este resultado foi influenciado pelo menor consumo de carboidratos não fibrosos,

causando impacto nas proporções de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen e, assim, influenciando na produção de leite.

Nas dietas experimentais em que se usou a mistura com ureia encapsulada, houve diferença significativa na produção de leite, quando comparada ao grupo controle. Logo, os resultados evidenciam que a utilização de ureia de liberação lenta, em substituição parcial ao farelo de soja, pode reduzir o desempenho produtivo de vacas leiteiras, alimentadas com dieta à base de cana-de-açúcar.

Os resultados deste trabalho foram contraditórios ao encontrado por Akay et al. (2004), que avaliaram o desempenho com 220 vacas leiteiras recebendo uma dieta controle e outra com ureia protegida. As vacas recebendo a dieta reformulada apresentaram incremento de 9%, aproximadamente, na produção de leite, e segundo os autores citados, esse incremento ocorreu devido à melhor utilização da ureia protegida como fonte de nitrogênio, o que aumentou a eficiência do rúmen em relação à ureia e à soja. Souza et al. (2010) avaliaram os efeitos da ureia protegida na produção e composição do leite em vacas lactantes utilizando na dieta 11,4% farelo de soja e outro utilizando 0,4% de ureia encapsulada + 9,0% de farelo de soja e não se observou diferenças nas produções diárias de leite. A substituição parcial do farelo de soja pela ureia protegida não reduziu o desempenho produtivo das vacas em lactação.

Não houve diferença significativa na produção de leite para os tratamentos em que se usou (0;44;88%) de ureia protegida. Segundo Azevedo et al. (2010), a utilização de ureia protegida e ureia convencional em vacas de leite não teve diferença significativa, sendo considerada determinante, para isso, a baixa eficiência de sua proteção, verificada por meio da liberação de amônia no rúmen, que foi semelhante ao longo do tempo.

A substituição da ureia convencional e encapsulada por soja não influenciaram na porcentagem de proteína bruta do leite entre as dietas, resultados semelhantes aos obtidos por Santos (2009) e Galo et al., (2003), quando avaliaram o efeito da ureia protegida para vacas em lactação. Santos et al. (1998) relataram que não houve diferença na composição do leite de vacas alimentadas com dietas com diferentes níveis de ureia, farelo de soja. Em contrapartida, Susmel et al. (1995) encontraram um aumento na proteína do leite devido à adição de ureia em ração fornecida às vacas leiteiras. Nas condições do presente estudo, a substituição parcial do farelo de soja por ureia não afetou a proteína do leite, o que pode ser explicado pelo fato da cana promover uma fermentação equilibrada da matéria orgânica, permitindo que os

microrganismos capturem o nitrogênio e o transforme em proteína microbiana, independente da fonte proteica.

A média de gordura para o teor de gordura no leite foi observado para a dieta experimental com 100% de ureia convencional, com o valor de 4,03%. O maior valor de síntese de gordura do leite em vacas alimentadas com ureia convencional pode ser atribuído ao impacto nas proporções de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen, principalmente, o acido acético (precursor da síntese de gordura no leite). Os possíveis mecanismos que resultaram no menor valor do teor de gordura do leite de vacas alimentadas com ureia protegida não foram elucidados, uma vez que a dieta base ofertada aos animais foi semelhante entre os tratamentos, e supria as exigências de fibra fisicamente efetiva. Souza et al. (2010) observaram em vacas lactantes que a suplementação de ureia protegida diminuiu as porcentagens de gordura, porém, com valores inferiores de 2,99% com farelo de soja e 2,71% com ureia de liberação lenta.

Resultados divergentes foram encontrados por Akay et al. (2004), que observaram vacas recebendo dietas formuladas com ureia protegida, as quais apresentaram um aumento no teor de gordura do leite, sem alterar sua produção, o que conferiu maior eficiência de conversão para as vacas recebendo ureia protegida. Segundo Highstreet et al. (2010), o uso de ureia encapsulada pode promover um pequeno aumento na gordura no leite em vacas leiteiras, em relação à ureia não protegida.

O valor médio da relação entre gordura e proteína no leite foi de 1,22 e não houve diferença significativa entre os tratamentos. A correlação entre os níveis de gordura do leite e proteína na taxa de 1,5 indicam que a faixa ideal da relação seja de 1 - 1,25 (G/P), enquanto que Duffield et al. (1997) definiram que 1,33 seria uma margem alta de risco para o animal. A relação gordura e proteína no valor maior que 1,5 é considerado um fator de risco para problemas metabólicos como a cetose (Eiche, 2004). Existem dois mecanismos responsáveis pelo aumento da gordura do leite: proteína. O primeiro mecanismo é o aumento da gordura do leite, devido à mobilização das reservas corporais do animal causada por um equilíbrio energético negativo. O segundo mecanismo é uma diminuição na proteína do leite como o resultado de uma falta de energia na ração e/ou diminuição da ingestão de matéria seca. Quando ocorre inversão da relação gordura e proteína do leite numa taxa menor que 1, o rebanho é considerado em risco de uma acidose ruminal subaguda (Eiche, 2004).

4-CONCLUSÂO

A substituição parcial de farelo de soja por ureia convencional e ureia de liberação lenta, em 2.1% da matéria seca da dieta, mostra que a ureia convencional e a ureia de liberação controlada são produtos que podem ser oferecidos, sem que haja prejuízos produtivos para as vacas lactantes.

5-REFERÊNCIAS

AKAY, V.; TIKOFSKY, J.; HOLTZ, C. et al. Optigen®1200: Controlled realease of non-protein nitrogen in the rumen. **Procedings of the 20th Alltech Symposium**, p. 179-185, 2004.

ALVAREZ ALMORA, E.G.; HUNTINGTON, G.B., BURNS, J.C. et al. Effects of supplemental urea sources and feeding frequency on ruminal fermentation, fiber digestion, and nitrogen balance in beef steers. **Animal Feed Science and Technology**. v.171, n.2, p.136-145, 2012.

AQUINO, A.A., BOTARO. B.G., IKEDA, F.S. et al. Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre a produção e a composição físico-química do leite **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.881-887, 2007.

AZEVEDO, E.B.; OSPINA-PATINO, H. SILVEIRA, A.L.F. et al. Suplementação nitrogenada com ureia comum ou encapsulada sobre parâmetros ruminais de novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, v.40, p.622- 627, 2010.

BARONI, C.E.S.; LANA, R.P.; MANCIO, A.B. et al. Níveis de suplemento à base de fubá de milho para novilhos Nelore terminados a pasto na seca: desempenho, características de carcaça e avaliação do pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.175-182, 2010.

BRITO, A.F.; BRODERICK, G.A. Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. **Journal Dairy of Science**., v.90, p.1816-1827, 2007.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

CORREIA, C. E. S.; PEREIRA, M. N.; OLIVEIRA, S. G. et al. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. **Scientia Agricola,** v. 60, n. 4, p. 621-629, 2003.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T. et al. Estimação da digestibilidade dos carboidratos não-fibrosos em bovinos utilizando-se o conceito de entidade nutricional em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1479-1486, 2006.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MANTOVANI, H.C. et al. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using *Michaelis-Menten* kinetics. **Livestock Science**, v.126, p.136-146, 2009.

DUFFIELD TF, KELTON DF, LESLIE KE, et al.,Use of test day milk fat and milk protein to predict subclinical ketosis in Ontario dairy cattle. **Canadian Veterinary Journal,** 1997; 38: 713-718.

EICHE, R. Evaluation of the metabolic and nutritional situation in dairy herds: Diagnostic use of milk components. **23rd World Buiatrics Congress**, Quebec City, Canada, 2004.

FRANCO,A.V.M.; FRANCO,G.L.; ANDRADE,P. et al. Parâmetros ruminais e desaparecimento da MS, PB e FDN da forragem em bovinos suplementados em pastagem na estação seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.33 n.5, Viçosa Sept. / Oct. 2004.

FEIJÓ, G.L.D.; SILVA, J.M.; PORTO, J.C.A. et al. Efeito de fontes de nitrogênio e do tipo de silagem no desempenho de bovinos F1 Pardo Suíço x Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.283-285. 1997.

GALO, E.; EMANUELE, S.M.; SNIFFEN, C.J. et al. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science,** v.86, p.2154-2162, 2003.

GONÇALVES, A.P. **Uso de ureia de liberação lenta em suplementos proteico-energéticos fornecidos a bovinos recebendo forragens de baixa qualidade.** Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal – Pirassununga, 2006.

GUMEN, A, KESKIN, A, YILMAZBAS-MECITOGLU, G. Dry Period Management and Optimization of Post-Partum Reproductive Management in Dairy Cattle. **Reproduction in Domestic Animals** 46 (Suppl. 3), 11–17, 2011.

HARRISON, G.A.; TRICARICO, J.M.; DAWSON, K.A. Effects of urea and Optigen® II on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in rumen-simulating cultures. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 22., 2006, Lexington. **Proceedings…** Lexington: Alltech, 2006. (CD-ROM).

HIGHSTREET, A. ROBINSON, P.H.; ROBISON, J. et al.Response of Holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. **Livestock Production Science**, v.129,p. 179–185, 2010.

HUNTINGTON, G.B. et al. Effects of a slow-release urea source on absorption of mmonia and endogenous production of urea by cattle. **Animal feed Science and Technology**, v.130, n.3, p.225-241, 2006.

INOSTROZA, J.F.; SHAVER, R.D.; CABRERA, V.E. et al. Effect of diets containing a controlled-release urea product on milk yield, milk composition, and milk component yields in commercial Wisconsin dairy herds and economic implications. **The Professional Animal Scientist**, v.26, p.175-180, 2010.

LANA, R.P.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. et al. Influence of monensin on Holstein steers fed high-concentrate diets containing soybean meal or urea. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2571-2579, 1997.

MAGALHÃES, A.L.R.; CAMPOS, J.M.S; CABRAL, L.S. et al. Cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho em dietas para vacas em lactação: parâmetros digestivos e ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.591-599, 2006.

MAGALHÃES, K.A. **Níveis de ureia ou casca de algodão na alimentação de novilhas de origem leiteira em confinamento.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 90p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

MARTINS, S.C.S.G.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CALDEIRA, L.A. et al.; Consumo, digestibilidade, produção de leite e análise econômica de dietas com diferentes volumosos **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.3, p.691-708, 2011

MENDONÇA,S.S., CAMPOS, J.M.S., VALADARES FILHO, S.C. Consumo, Digestibilidade Aparente, Produção e Composição do Leite e Variáveis Ruminais em Vacas Leiteiras Alimentadas com Dietas à Base de Cana-de-Açúcar **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.33, n.2, p.481-492, 2004

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed.rev. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 381p.

ORGANIZAÇÕES DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA – FAO. Rebanho bovino leiteiro no Brasil. Disponível em: <http://**www.fasotat.fao.org**/2012> Acesso em: 03 março 2013.

OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite em vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.30, n.4,1358- 1366, 2001.

OLIVEIRA, A.S., DETMANN, E., CAMPOS, J. M. S. "Meta-análise do impacto da fibra em detergente neutro sobre o consumo, a digestibilidade eo desempenho de vacas leiteiras em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia** 40.7, 1587-1595. 2011

PRADO, I.N.; MOREIRA, F.B. **Suplementação de bovinos no pasto e alimentos usados na bovinocultura**. Maringá: UEM, 2002. 162p.

PEREIRA, E.S.; QUEIROZ, A.C.; PAULINO, M.F. et al. Determinação das frações protéicas e de carboidratos e taxas de degradação *in vitro* da cana-de-açúcar, da cama de frango e do farelo de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1887-1893, 2000.

PEREIRA, E. S. ARRUDA A. M.V; MIRANDA, L.F. et al. Importância da inter-relação carboidrato e proteína em dietas de ruminantes **Seminario: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 125-134, jan./mar. 2005.

KITAMURA S.S., A.C. ANTONELLI., C.A. MARUTA. Avaliação de alguns tratamentos na intoxicação por amônia em bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.6, p.1303-1311, 2010

ROCHA JÚNIOR, V.R., VALADARES FILHO, S. C., BORGES, Á. M. Estimativa do Valor Energético dos Alimentos e Validação das Equações Propostas pelo NRC (2001) **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.32, n.2, p.480-490, 2003.

REID, J.T. Urea as a protein replacement for ruminants: a review. **Journal of Dairy Science.**, v.36, p.955-996, 1953.

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

SANTOS, J.F. **Respostas de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada.** 2009. 66f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS FAP, HUBER JT, THEURER CB et al. Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. **Journal of Dairy Science**. v-81, p. 215-220.1998

SANTOS, J.F.; DIAS JUNIOR, G.S.; BITENCOURT, L.L. et al. Resposta de vacas leiteiras a substituição o parcial de farelo de soja por ureia encapsulada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.423-432, 2011.

SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Ureia para vacas em lactação. 1. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1639-1649, 2001.

SILVA, C.V., LANA, R.P., CAMPOS, J.M.S. Consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes e desempenho de vacas leiteiras em pastejo com dietas com diversos níveis de concentrado e proteína bruta **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1372-1380, 2009.

SILVA, D. J., A. C. QUEIROZ. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 235p. 2002.

SILVA, L.M.; FEIJÓ, G.L.D.; THIAGO, L.R.L. et al. Desempenho e avaliação do potencial produtivo de forragens para ensilagem, por intermédio de diferentes fontes de suplementação nitrogenada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.3, p.642-653, 1999.

SILVEIRA, V.A.; LOPES, N.M.; OLIVEIRA, R. C. et al. Substituição parcial de farelo de soja por ureia de liberação lenta em rebanhos leiteiros comerciais **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, Salvador, v.13, n.2, p.383-395, 2012.

SINCLAIR, L. A., BLAKE, C. W., GRIFFIN, P. and JONES, G. H. The partial replacement of soyabean meal and rapeseed meal with feed grade urea or a slowrelease

urea and its effect on the performance, metabolism and digestibility in dairy cows. **Animal**, 6, pp 920927, 2012.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; van SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

SOUZA, V.L.S; ALMEIDA, R; SILVA, D.F.F.S; PIEKARKI, P.R.B; JESUS, C.P. Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição de leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.62, n.6, p.1415-1422, 2010.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **User's guide.** Cary: SAS Institute, 2002. 525p.

SUSMEL, P., SPANGHERO, M., STEFANON, B. Nitrogen balance and partitioning of some nitrogen catabolites in milk and urine of lactating cows. **Livestock Production. Science,** 44, 207–209, 1995.

VALINOTE, A. C.; HERRERA, R. G.; LEME, P. R.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; SILVA, S. L. Optigen na Beef-Sacc in digestibility and degradability with high roughage diets. In: ANNUAL SYMPOSIUM, 21, 2005, Lexington. **Proceedings...** Lexington-KY: [s.n] 1 CD-ROM.

VALVASORI, E.; LAVEZZO, W.; LUCCI, C.A. et al. Alterações na fermentação ruminal de bovinos fistulados alimentados com cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p.86-88.

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.

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

TEIXEIRA, R.M.A.; LANA, R.P.; FERNANDES, L.O.; OLIVEIRA, A.S.; QUEIROZ, A.C.; PIMENTEL, J.J.O. Desempenho produtivo de vacas da raça Gir leiteira em confinamento alimentadas com níveis de concentrado e proteína bruta nas dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.11, p.2527-2534, 2010.

XIN, H.S.; SCHAEFER, D.M.; LIU, Q.P. et al. Effects of polyurethane coated urea supplement on *in vitro* ruminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of Holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. **Asian and Australian Journal of Animal Science**, v.23, p.491-500, 2010.

CAPÍTULO II

Metabolismo do nitrogênio e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com cana-de-açúcar e compostos nitrogenados.

Resumo: Objetivou-se, com este estudo, avaliar o efeito de duas diferentes fontes de ureia na dieta de vacas leiteiras sobre o metabolismo de nitrogênio e síntese microbiana. Utilizaram-se oito vacas mestiças Holandês x Zebu. As vacas foram confinadas, sendo distribuídas aleatoriamente, alocadas a uma sequência de quatro dietas experimentais, em delineamento distribuído em dois quadrados latino 4x4, realizados simultaneamente. FS - farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%. Os animais receberam dietas contendo 70% de volumoso (cana-de-açúcar) e 30% de concentrado. Os períodos experimentais foram de 21 dias, sendo o período compreendido entre o 1° e o 14° dia considerado de adaptação dos animais às dietas fornecidas e o período entre o 15° ao 21° dia, o de coleta de amostras, com duração total de 84 dias. A substituição das fontes de nitrogênio pelo farelo de soja, em 2,1% de matéria seca utilizada no fornecimento da dieta, apresentou valores semelhantes entre as dietas experimentais nas variáveis de consumo de N, balanço de nitrogênio retido, excreções de nitrogênio no leite, na urina e nas fezes, e total de N excretado, com resultados das médias referentes a 340,27 g/dia, 136,73 g/dia, 43,25 g/dia, 53,17 g/dia, 103,54 g/dia, 199,96 g/dia, respectivamente. Entre as variáveis de porcentagem de nitrogênio excretado na urina e nitrogênio excretado total não houve diferenças significativas, e os resultados das médias foram 16,24% e 60,71%, respectivamente. A média da porcentagem de N retido entre os tratamentos foi de 39,28%, sendo que a sua maior porcentagem foi obtida no tratamento em que se utilizou 100% de ureia convencional. O balanço de nitrogênio retido encontrado resultou num efeito quadrático entre os tratamentos. A concentração de ureia no leite e de nitrogênio ureico no leite é semelhante entre os tratamentos ($P<0,05$), com resultados das médias referentes a 29,94 mg/dL, 13,95 mg/dL, respectivamente. As médias da excreção urinária de ureia e de nitrogênio ureico foram de 9,28 mg/dL e 4,32 mg/dL, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados referentes à concentração de ureia sérica e de nitrogênio ureico no soro entre os tratamentos foram de 50,49 mg/dL, 23,73 mg/dL. Foi observado um efeito linear decrescente, de acordo com o aumento da proporção de ureia de liberação lenta. Os resultados encontrados para variáveis na excreção de derivados de purina, alantoína, purinas absorvíveis, nitrogênio microbiano, proteína microbiana e relação proteína microbiana e nutrientes digetíveis totais foram semelhantes entre os tratamentos ($P<0,05$); as médias encontradas foram 321,68 mmol/dia, 296,35 mmol/dia, 334,61 mmol/dia, 210,6 g/dia, 1316,27 g/dia, 127,36 g/kg, respectivamente.

Palavras–chave: balanço de nitrogênio, produção microbiana, ureia encapsulada, vacas de leite

CHAPTER II

Nitrogen metabolism and microbial production of dairy cows fed sugar cane and nitrogenous compounds

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of dairy cows diet containing two different sources of urea on nitrogen metabolism and microbial synthesis. Eight crossbred cows (Holandês x Zebu) were confined and randomly assigned to four sequential diets distributed in two 4 x 4 Latin squares simultaneously: SM = soybean meal; SRU 0 = conventional urea (CU) 100%/slow release urea (SRU) 0%; SRU 44 = CU 56%/SRU 44%; SRU 88 = CU 12%/SRU 88%, Animals were fed on diets containing sugar cane (70%) and concentrate (30%). The diets were offered to the animals during 21 days. The adaptation period lasted from day 1 to day 14, and samples were collected from day 15 to day 21. The total duration of the experiments was of 84 days. The substitution of nitrogen sources for soybean meal in 2.1% of the dry matter offered presented similar N intake values, retained nitrogen balance, nitrogen excretion in milk, urine, feces and total N excretion among diets ($P<0.05$), and the average results were 340.27 g/day, 136.73 g/day, 43.25 g/day, 53.17 g/day, 103.54 g/day, and 199.96 g/day, respectively. The variable percentages of urine and total nitrogen excretion were similar when diets were compared ($P<0.05$), and the average results were 16.24 and 60.71 (%), respectively. Average retained N was 39.28%, and the highest percentage was observed when animals were fed diets with 100% CU. The retained nitrogen balance resulted in a quadratic effect between treatments. Urea concentration and ureic nitrogen in milk were similar for all treatments ($P<0.05$), and the average results were 29.94 mg/dL and 13.95 mg/dL, respectively. Average urinary urea and nitrogen excretion was 9.28 mg/dL and 4.32 mg/Dl, respectively, with no significant difference between treatments. The results for serum urea and ureic nitrogen were 50.49 mg/dL and 23.73 mg/dL, respectively. Increase in the amount of SRU had a linear and decreasing effect. The results found for the excretion of purine derivatives, alantoine, absorbable purines, microbial nitrogen, microbial protein and the relation between microbial protein and digestible nutrients was similar for all treatments ($P<0.05$). The mean values obtained were 321.68 mmol/day, 296.35 mmol/day, 334.61 mmol/day, 210.6 g/day, 1316.27 g/day, and 127.36 g/kg, respectively.

Keywords: nitrogen balance, microbial production, encapsulated urea, dairy cows

1-INTRODUÇÃO

A determinação da contribuição da proteína microbiana constitui uma importante área de estudo na nutrição proteica de ruminantes, sendo que a estimativa da contribuição da proteína microbiana no fluxo intestinal de proteína está incorporada aos sistemas de avaliação de proteína, já em uso em vários países (Chen & Gomes, 1992).

Segundo Valadares filho (1995), as exigências proteicas dos ruminantes são atendidas mediante a absorção intestinal de aminoácidos provenientes, principalmente, da proteína microbiana sintetizada no rúmen e da proteína dietética não-degradada no rúmen.

Segundo Bach et al. (2005), o metabolismo do N pode ser dividido em dois eventos distintos: a degradação dos compostos nitrogenados e a síntese de proteína microbiana. Os microrganismos do rúmen têm a capacidade de transformar os conpostos nitrogênados da dieta em proteína de boa qualidade. Esse nitrogênio tanto pode vir de proteínas verdadeiras dos alimentos, quanto de alguns compostos inorgânicos (compostos nitrogenados não-proteicos), como ureia, biureto e ácido úrico.

A determinação do balanço de nitrogênio permite quantificar retenções ou perdas de proteína pelo organismo do animal, referentes ao consumo de determinada ração. A otimização do balanço entre a síntese de proteína microbiana e a degradação da proteína no rúmen em vacas lactantes tem o potencial de melhorar a produção de leite e reduzir a excreção de nitrogênio no ambiente (Imaizumi et al., 2010).

O aproveitamento das forragens pelos bovinos está diretamente relacionado à atividade microbiana ruminal, notadamente sobre os compostos fibrosos, os quais dependem do nível de compostos nitrogenados presentes no meio (Costa et al., 2011). De forma similar, o fornecimento de dietas à base de cana-de-açúcar, cujo conteúdo de parte dos carboidratos é rapidamente disponível para os microrganismos do rúmen, permitiu o fornecimento de energia necessária para a síntese microbiana de proteína.

O crescente uso da cana-de-açúcar na alimentação animal tem sido associado a alguns atributos, como a alta produtividade de massa verde de aproximadamente 120 t/ha (Silva, 1993). Além disso, esses fatores, aliados à facilidade de obtenção de mudas e plantio e à possibilidade de sua utilização na produção animal, têm atraído pecuaristas ao uso da cana-de-açúcar como fonte de alimento volumoso (Nussio et al., 2003).

A utilização do nitrogênio não proteico de liberação gradativa no rúmen pode ser uma estratégia para diminuir a utilização das fontes de proteína verdadeira e da ureia

pecuária em dietas para ruminantes, com vantagens de diminuir os riscos com intoxicação por ureia, aumentar o espaço para inclusão de ingredientes na dieta, além de substituir fontes de proteína verdadeira de alto custo (Souza et al., 2010).

A ureia pode ser fisicamente encapsulada por polímeros, visando reduzir a velocidade de liberação de nitrogênio (N) no rúmen. Já foram observadas tendências de aumento na síntese microbiana *in vitro*, quando a ureia encapsulada substituiu a ureia convencional (Harrison et al., 2006). Trata-se de uma fonte altamente concentrada de nitrogênio (42% de N), que pode alterar a função ruminal, fornecendo nitrogênio às bactérias do rúmen numa velocidade que otimiza sua conversão em proteína microbiana (Akay et al., 2004).

No entanto, a quantidade de ureia que pode ser utilizada na alimentação é limitada, devido à rápida hidrólise de NH3 no rúmen, causada por enzimas microbianas (Golombeski et al, 2006; Highstreet et al, 2010). Esta hidrólise rápida de NH3 pode ocorrer em um ritmo muito mais rápido do que a sua utilização por bactérias do rúmen, com a acumulação de efeitos no rúmen e absorção da parede do rúmen. O resultado líquido é que uma parte potencialmente grande de N, a partir de fontes de alimentação com compostos nitrogenados não proteicos, é excretada na urina, o que pode contribuir para a poluição do meio ambiente (Broderick et al., 2009).

Muitos estudos têm relacionado a suplementação de compostos nitrogenados na dieta ao seu metabolismo (Broderick, 2003; Hojman, 2004), por meio da análise das concentrações de nitrogênio ureico no sangue e no leite, com o objetivo de maximizar a utilização de nitrogênio na ração de vacas lactantes e, consequentemente, explorar a utilização de fontes proteicas e de seus benefícios sobre a produção de leite.

A concentração de ureia no sangue pode sofrer alterações passageiras durante o dia, principalmente após a alimentação. A rápida fermentação, seguida da absorção de amônia, eleva a concentração sérica de ureia após este período (Garcia, 1997). A ureia sanguínea pode fornecer um reconhecimento, em curto prazo, da ingestão de componentes nitrogenados no organismo animal, sejam eles proteicos ou não (Payne & Payne, 1987).

A concentração de nitrogênio ureico no leite (NUL) tem se apresentado uma ferramenta útil para monitorar o status nutricional proteico e a saúde de um rebanho de vaca, além de ser benéfica para reduzir perdas e maximizar a eficiência de utilização de nitrogênio (Roy et al., 2011).

Objetivou-se avaliar o balanço de nitrogênio, as concentrações de nitrogênio no soro, na urina e no leite e a síntese de proteína microbiana, em função de dietas com substituição parcial do farelo de soja por ureia convencional e/ou ureia encapsulada na alimentação de vacas lactantes.

2-MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Paulistinha, localizada no município de Macarani, Bahia, e na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), no *campus* de Itapetinga, Bahia. Foram utilizadas 8 vacas mestiças Holandês x Zebu, de terceira ou quarta lactação, com produção anterior entre 3.000 e 4.000 kg ajustado para 305 dias. Apresentavam peso corporal de 445 kg ± 9 kg, e aproximadamente com 60 dias de lactação, no início do período experimental.

As vacas foram confinadas, sendo distribuídas aleatoriamente, alocadas a uma sequência de quatro dietas experimentais, em delineamento distribuído em dois quadrados latino 4x4, realizados simultaneamente. FS - farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%. Os períodos experimentais foram de 21 dias, sendo o período compreendido entre o 1° e o 14° dia considerado de adaptação dos animais às dietas fornecidas e o período entre o 15° ao 21° dia, o de coleta de amostras, com duração total de 84 dias. Os animais foram confinados em baias individuais cobertas com área de três metros quadrado com piso de areia, providas de comedouros e bebedouros.

As dietas foram calculadas para suprir as exigências de mantença, tendo em vista uma produção de 12 kg de leite/dia, com 3,5% de gordura, de acordo com o *Nacional Research Council* (NRC, 2001)**.**

Os animais receberam dietas contendo 70% de volumoso e 30% de concentrado (Tabela 1). O volumoso utilizado foi a cana-de-açúcar (*Saccharum*). Para compor os concentrados, foram utilizados: milho, trigo, soja, ureia e mistura mineral. As fontes de ureia utilizadas foram a ureia convencional e a ureia de liberação lenta − *Optigen®II (Alltech Inc., Nicholasville, USA),* tendo como controle dieta com farelo de soja. A mistura entre volumoso e o concentrado foi realizada no momento do fornecimento da alimentação.

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), variedade RB 72-454, foi colhida diariamente e triturada com folhas, em máquina forrageira, no momento do fornecimento. Semanalmente, amostras eram coletadas para determinação da MS e ajuste da relação volumoso:concentrado da dieta. A concentração média de açúcares solúveis (ºBRIX) do material analisado foi de 18,0°, analisado pelo refratômetro.

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Ingredientes % MS	DIETAS EXPERIMENTAIS			
	FS	ULL 0	ULL 44	ULL 88
Cana-de-açúcar	70,0	70,0	70,0	70,0
Milho grão moído	6,8	20,7	20,6	20,6
Farelo de Soja	22,0	6,0	5,9	5,9
Mistura mineral	0,7	0,7	0,7	0,7
Ureia	0	2,1	1,38	0,46
Ureia protegida	0	0	0,92	1,84
Calcário	0,5	0,5	0,5	0,5
% Nutriente				
MO	99,8	99,8	99,8	99,8
PB	15,8	17,5	16,5	15,6
NDT	72,5	71,5	71,9	71,1
FDN	48,9	52,0	50,2	49,3
EE	2,8	2,7	3,1	2,8
CNF	32,1	25,7	28,9	29,4

Mistura mineral:Cálcio - 165,00 g/kg;Fósforo - 78,00 g/kg; Enxofre - 26,00 g/kg; Magnésio - 20,00 g/kg; Sódio - 114,00 g/kg; Cobalto - 90,00 mg/kg; Cobre - 1.238,00 mg/kg; Cromo - 20,00 mg/kg; Ferro - 2.000,00 mg/kg; Iodo - 80,00 mg/kg; Manganês - 2.057,00 mg/kg; Selênio - 27,50 mg/kg; Zinco - 4.896,00 mg/kg; Flúor - 780,00 mg/kg .PB: proteína bruta; NDT: nitrogênio digestível total; FDN: fibra em detergente líquido; EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos. FS = farelo de soja. ULL = ureia de liberação lenta.

As dietas foram oferecidas pela manhã, às 7:00, e à tarde, às 16:00, em quantidade suficiente para resultar em, no mínimo, 10% do oferecido como sobra diária. As sobras foram coletadas e pesadas diariamente, pela manhã, antes da primeira alimentação, para efeito de ajuste de consumo. O consumo diário de matéria natural foi determinado subtraindo-se do total de alimento oferecido, nas duas alimentações, o peso das sobras, do 14° ao 21° dia de cada período. As vacas foram pesadas no início e no final de cada período experimental, para estimar o consumo de nutrientes em porcentagem do peso corporal e para verificação da variação de peso corporal de cada tratamento.

Foram coletadas amostras diárias de cada ingrediente da dieta e das sobras, por animal, e amostras compostas foram formadas, com base em quantidades de matéria natural. Essas amostras foram desidratadas em estufa de ventilação forçada, por 72h, a 55ºC, e trituradas em moinho do tipo *Thomas-Willey* com peneira de 1 mm. Uma subamostra foi desidratada em estufa de 105ºC, por 24 horas, para determinação da matéria seca definitiva. Posteriormente, o consumo de matéria seca foi calculado, multiplicando-se o valor de matéria seca da dieta pelo consumo diário de matéria natural.

As análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio total, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) dos alimentos, das sobras e das fezes foram realizadas segundo os procedimentos descritos por Silva e Queiroz (2002).

Para as análises de extrato etéreo, pesaram-se 2,0 g das amostras de cana, sobras, fezes e concentrados, as quais foram embrulhadas em guardanapos de papel-seda (14,0 cm × 14,0 cm), em forma de cartuchos. As extremidades foram grampeadas e as amostras foram levadas à estufa de ventilação forçada, a 55°C, por 12 horas, onde foram mantidas em dessecador até atingir temperatura ambiente e, posteriormente, pesadas (Silva & Queiroz, 2002).

Cada cartucho foi colocado nas conexões extratoras fracionadas soxlet e mantidos sob aquecimento por 5 horas, para extração da gordura com éter de petróleo, adicionando- se, aproximadamente, 30 mL de éter por cartucho, em balões redondos de fundo chato com capacidade para 500 mL. Após a extração, os balões foram novamente levados à estufa de ventilação forçada, a 55°C, por 12 horas. O teor de gordura foi obtido pela diferença entre os pesos dos balões, antes e após a extração, e depois foi corrigido para MS (Silva & Queiroz, 2002).

A porcentagem de carboidratos totais (CT) foi obtida pela equação: 100 – (%PB + %EE +%cinzas) e a porcentagem de CNF foi calculada como 100 - (%FDNcp + %PB + %EE + %cinzas) (SNIFFEN et al., 1992). Para o cálculo de NDT, utilizou-se a equação proposta pelo NRC (2001):

NDT = PBD + 2,25 x EED + FDNcpD + CNFD.

Em que:

PBD = proteína bruta digestível;

EED = extrato etéreo digestível

FDNcpD = fibra em detergente neutro (corrigida para cinzas e proteína) digestível

CNFD = carboidratos não-fibrosos digestíveis.

A coleta de fezes foi realizada durante dois dias alternados, em horários diferentes (7:00 e 17:00 horas), entre o 14º e 21º dia do experimento. As fezes de cada vaca foram congeladas ao longo das coletas e formaram uma amostra composta ao final de cada período. Os compostos, por vaca, foram desidratados, e o teor de FDN, cinzas e nitrogênio foram analisados.

Para estimar a digestibilidade aparente dos nutrientes, foi efetuada a coleta de fezes dos animais entre o 14º e o 21º dias do experimento. Para se estimar a excreção fecal, foi utilizada a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), como indicador interno. Amostras dos alimentos fornecidos (cana e concentrado), sobras e fezes foram incubadas por 240 horas (Casali et al., 2008), em duplicata (20 mg MS/cm²), em sacos de tecido não-tecido (TNT - 100 g/m²) no rúmen de um novilho mestiço Holandês-zebu. Após este período, o material remanescente da incubação foi submetido à extração com detergente neutro (Mertens, 2002) para a quantificação dos teores de FDNi. Os valores de excreção fecal foram obtidos por intermédio da relação entre consumo e concentração fecal de FDNi.

A produção de leite foi avaliada do 14° ao 21° dia de cada período experimental. As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, às 6:00 e às 16:00 horas. As amostras serão compostas do leite das ordenhas da manhã e da tarde, sendo a proporção determinada pela produção nas respectivas ordenhas. Em cada amostra, foram determinados os teores de gordura, proteína e ureia no leite. Dessa amostra composta, a alíquota de 10 mL foi misturada a 5 mL de ácido tricloroacético a 25%, filtrada em filtro de papel, e o sobrenadante, armazenado a –20ºC, para posteriores análises de alantoína e ureia no leite desproteinizado (Valadares et al., 1999).

Nos períodos de 14° a 21°, foram realizadas coletas de urina, *spot*, em micção espontânea dos animais, aproximadamente 4 horas após o fornecimento da alimentação matinal, conforme descrito por Barbosa et al. (2006). As amostras foram filtradas em gaze, e uma alíquota de 10 mL foi separada e diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N) (Valadares et al., 1999), sendo, posteriormente, destinada à quantificação das concentrações urinárias de ureia, nitrogênio, creatinina, alantoína. A coleta de sangue foi realizada na veia jugular, no 21º dia, aproximadamente 4 horas após o fornecimento da alimentação da manhã, utilizando-se tubos (*Vacutainer*) de 5 mL. Em seguida, as amostras de sangue foram transferidas para o laboratório, centrifugadas a 3.500 rpm, durante 10 minutos, e o soro, acondicionado em microtubos de 5 mL, foi mantido congelado (–20°C) até a realização das análises. As concentrações de creatinina e ácido úrico na urina e de ureia na urina e no soro foram estimadas utilizando-se *kits* comerciais (Bioclin). A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0,4667. O teor urinário de alantoína foi obtido por métodos colorimétricos, conforme especificações de Chen e

Gomes (1992), e o teor de nitrogênio total, estimado pelo método de Kjeldhal (Silva & Queiroz, 2002).

O balanço de nitrogênio (N retido, g/dia) foi calculado como:

$$\text{N retido(g)} = \{\text{N ingerido (g)} - \text{N fezes (g)} - \text{N urina(g)}\}$$

Em que: N retido = nitrogênio retido no organismo do animal; N ingerido = nitrogênio ingerido pelo animal; N fezes = nitrogênio excretado nas fezes e N urina = nitrogênio excretados na urina.

A excreção de derivados de purinas totais (PT) foi estimada pela soma das quantidades de alantoína e de ácido úrico excretadas na urina, e a quantidade de purinas microbianas foram absorvidas (mmol/dia) pela excreção de derivados de purinas totais (mmol/dia), por meio da equação proposta por Verbic et al. (1990):

$$\text{PA} = \left\{\frac{\text{PT} - 0{,}385 \times \text{PC}^{0{,}75}}{0{,}85}\right\}$$

Em que: PA = purinas absorvidas (mmol/dia) e PT = purinas totais (mmol/dia); 0,85 = recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina na urina e 0,385 = excreção endógena de derivados de purina na urina (mmol), por unidade de peso metabólico ($PC^{0,75}$).

Para estimativa da síntese de proteína microbiana, foram utilizadas bases purinas (mmol/dia) como indicador microbiano, em cuja quantificação foi utilizada a equação proposta por Chen & Gomes (1992):

$$\text{NM(g/dia)} = \left\{\frac{70 \times \text{PA}}{0{,}83 \times 0{,}116 \times 1000}\right\}$$

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

Os resultados foram interpretados estatisticamente e submetidos à análise de contrastes com 5% de significância de probabilidade, para determinar se as respostas obtidas comportavam-se com padrões lineares ou quadráticos. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos pelo programa SAS (2002).

3-RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 2 - Médias de ingestão de nitrogênio total (INT), excreções de nitrogênio no leite (ENL), excreções de nitrogênio na urina (E.N.U.) e excreções de nitrogênio nas fezes (E.N.F.), balanço de nitrogênio (B.N.) e total de nitrogênio excretado (T.N.E), observados em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais.

Dietas experimentais	I.N.T. (g/dia)	E.N.L. (g/dia)	N.E.U. (g/dia)	E.N.F. (g/dia)	B. N. (g/dia)	T.N.E. (g/dia)
FS	**342,21**	**46,65**	**51,20**	**107,62**	**136,73**	**205,47**
ULL 0	**346,08**	**38,54**	**60,35**	**92,64**	**154,55**	**191,54**
ULL 44	**313,71**	**43,50**	**50,94**	**109,67**	**109,6**	**204,11**
ULL 88	**359,09**	**44,31**	**50,18**	**104,25**	**160,34**	**198,75**
Média	**340,27**	**43,25**	**53,17**	**103,54**	**140,3**	**199,96**
EPM	**16,3**	**1,90**	**3,82**	**5,54**	**12,5**	**7,14**
L*	**0,7392**	**0,2509**	**0,2295**	**0,3368**	**0,8172**	**0,6999**
Q*	**0,2631**	**0,6242**	**0,5428**	**0,2824**	**0,0512**	**0,5784**
1 vs. (2 + 3 + 4)	**0,9294**	**0,2714**	**0,7054**	**0,5925**	**0,8359**	**0,6131**
2 vs. (3 + 4)	**0,7539**	**0,2211**	**0,1936**	**0,1904**	**0,4250**	**0,5213**
1 vs. 2	**0,9134**	**0,1137**	**0,2886**	**0,2339**	**0,5286**	**0,4349**
1 vs. 3	**0,4269**	**0,5286**	**0,9756**	**0,8690**	**0,3397**	**0,9388**
1 vs. 4	**0,6364**	**0,6393**	**0,9048**	**0,7857**	**0,4050**	**0,7050**
2 vs. 3	**0,3676**	**0,3242**	**0,2756**	**0,1778**	**0,1197**	**0,4806**
2 vs. 4	**0,7155**	**0,2532**	**0,2401**	**0,3537**	**0,8369**	**0,6849**
3 vs. 4	**0,2102**	**0,8703**	**0,9290**	**0,6627**	**0,0810**	**0,7625**

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88. I.N. = ingestão de nitrogênio. N.E.= nitrogênio excretado. N.T.= nitrogênio total. * = Significativo a 5% de probabilidade.

A tabela 2 mostra que a substituição do farelo de soja pela ureia convencional e a ureia protegida, em 2,1% de matéria seca do concentrado, apresentou valores semelhantes. A respeito das variáveis de consumo de N, balanço de nitrogênio retido, excreções de nitrogênio no leite, na urina e nas fezes, e total de N excretado, os resultados das médias foram 340,27, 136,73, 43,25, 53,17, 103,54, 199,96 g/dia, respectivamente.

O consumo de nitrogênio nas dietas experimentais foi inferior ao encontrado por Vasconcelos et al. (2010), quando utilizaram soja e ureia em vacas leiteiras, sendo um valor de 533,48 g/dia. Em relação ao balanço de N retido, o valor foi superior ao encontrado por Vasconcelos et al. (2010) com o valor de 92,19 g/dia e ocorrendo uma maior excreção nas fezes, na urina e no leite, com valores médios de 150,38; 147,55; 143,38 g/dia. Devido à proporção de ureia protegida nas dietas experimentais, é possível que os compostos de ureia protegida sejam removidos do rúmen antes que ocorra a

adaptação destes compostos nitrogenados (Johnson & Clemens 1973), devido ao aumento na taxa de passagem.

O consumo de N é proporcionado pelos suplementos ureia convencional e ureia de liberação Lenta que, na forma de amônia ($N\text{-}NH_3$), no rúmen passa, por difusão, pelo epitélio ruminal, seguindo para a corrente sanguínea, onde uma parte é reciclada pela saliva e outra parte é transformada no fígado em ureia (Azevedo et al., 2010).

Segundo Cavalcante et al. (2006), o maior aproveitamento dos compostos nitrogenados ocorre quando se utilizam dietas com menores teores proteicos, pois o aumento excessivo da PB da dieta pode ocasionar excesso na liberação de ureia, via urina, constituindo desperdício de proteína.

O balanço positivo de nitrogênio indica que houve retenção de proteína no organismo animal, proporcionando condições para que não ocorresse perda de desempenho, o que significa, provavelmente, que as exigências de proteína nas dietas foram satisfeitas. Segundo Van Soest (1994) e Hoffman et al. (2001), existe uma relação linear entre consumo de nitrogênio e excreção de nitrogênio nas fezes e na urina.

No presente trabalho, em virtude da taxa de degradação dos compostos nitrogenados, a velocidade de utilização de N pelos microrganismos ruminais para seu crescimento pode ter causado um desequilíbrio entre o N e a energia no rúmen, uma diminuição da eficiência de utilização dos compostos nitrogenados e, consequentemente, uma maior síntese de ureia pelo fígado, com posterior excreção urinária. Associando-se essa variável à ingestão de N, observou-se um quadro de maior excreção de N, o que não é desejável nos sistemas de produção (Pereira et al., 2007).

A média de porcentagem de excreção de N no leite foi 12,52%. As análises de contraste revelaram que as vacas do tratamento com 100% de ureia convencional promoveram a menor excreção de N no leite, havendo diferença em relação às outras dietas experimentais com ureia protegida (Tabela 3).

A substituição do farelo de soja pelas fontes de nitrogênio, utilizado no fornecimento da dieta, apresentou as variáveis de porcentagem de nitrogênio excretado na urina e de nitrogênio excretado total semelhantes entre as dietas experimentais, com valores médios de 16,24 e 60,71 (%), respectivamente (Tabela 3). Foram observadas maiores excreções de nitrogênio nas fezes e na urina dos animais. A excreção de N-ureico está relacionada aos teores de ureia e/ou de PB das dietas (Moraes, 2003; Valadares et al. 1997).

Tabela 3 - Médias de porcentagem das excreções de nitrogênio de leite (E.N.L.), excreções de nitrogênio da urina (E.N.U.) e excreções de nitrogênio das fezes (E.N.F.), nitrogênio retido (NR) e nitrogênio total excretado (NTE), observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais.

Dietas experimentais	E.N.L. (%)	E.N.U. (%)	E.N.F. (%)	N.R. (%)	N.T.E. (%)
FS	13,70	14,69	31,89	39,70	60,29
ULL 0	10,52	19,06	27,75	42,65	57,34
ULL 44	14,16	16,51	36,25	33,06	66,93
ULL 88	13,31	14,72	30,26	41,70	58,34
Média	12,92	16,24	31,54	39,28	60,71
EPM	0,67	1,18	1,83	2,08	2,08
L*	0,0794	0,0622	0,2837	0,7605	0,7605
Q*	0,0968	0,8344	0,0028*	0,0045*	0,0045
1 vs. (2 + 3 + 4)	0,4068	0,3916	0,8569	0,8872	0,8872
2 vs. (3 + 4)	0,0237*	0,1868	0,0567	0,2201	0,2201
1 vs. 2	0,0482*	0,1486	0,2044	0,5476	0,5479
1 vs. 3	0,7633	0,5367	0,1829	0,1820	0,1820
1 vs. 4	0,7930	0,9911	0,6123	0,6830	0,6830
2 vs. 3	0,0260*	0,3909	0,0132*	0,0588	0,0588
2 vs. 4	0,0802	0,1515	0,4366	0,8458	0,8458
3 vs. 4	0,5744	0,5440	0,0716	0,0864	0,0864

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88; N.E.= nitrogênio excretado. N.T. = nitrogênio total. * = Significativo a 5% de probabilidade.

Não houve efeito na excreção de nitrogênio total nas dietas experimentais. A maior excreção de N na dieta com cana-de-açúcar e diferentes fontes de nitrogênio deu-se nas fezes, com média de 31,54%. Houve uma diferença (P<0,05) entre as dietas experimentais com utilização de 100% de ureia convencional e na dieta com adição de 44% de ureia protegida, sendo que a utilização de 44% de ureia de liberação lenta promoveu a maior excreção de N nas fezes com o valor de 36,25%.

Houve associação positiva na dieta experimental com 100% de ureia convencional, com redução na porcentagem de excreção de N fecal e de N no leite e elevação na porcentagem de retenção de nitrogênio.

A média da porcentagem de N retido entre as dietas experimentais foi de 39,28%, sendo que a sua maior porcentagem foi obtida na dieta experimental em que se utilizou 100% de ureia convencional. A soma de excreção de N encontrado em todos os tratamentos foi maior que o balanço retido. Logo, é observada quanto aos aspectos de menor excreção fecal, em tratamentos que obtiveram um maior balanço de N retido.

O excesso de proteína degradável no rúmen leva ao excesso de NH3, que pode afetar os valores de energia disponível para o animal. Nos rins, músculos e no cérebro, o ácido glutâmico reage com a NH3 para formar glutamina. A fonte imediata de ácido glutâmico é o alfa-cetoglutarato, um composto intermediário do ciclo do ácido cítrico, o qual é essencial para a formação de energia no animal. Se a demanda de alfa-cetoglutarato é alta, em função da grande quantidade de NH3 circulante, o ciclo do ácido cítrico pode ficar comprometido e, consequentemente, a gliconeogênese também fica comprometida (Garcia-Bojalil et al., 1998).

Todavia, a reciclagem de ureia no rúmen (Hall et al., 2008) pode ter sido um fator compensador da maior velocidade de liberação da ureia, o que pode explicar a ausência de efeito sobre o desempenho dos animais.

Tabela 4 - Médias de valores referentes à concentração de ureia no leite, nitrogênio ureico no leite, ureia sérica, nitrogênio ureico no soro, ureia na urina, nitrogênio ureico na urina e creatinina, observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais.

Dietas experimentais	Ureia/Leite (mg/dL)	N.U/Leite (mg/dl)	Ureia/urina (mg/dL)	N.U /urina (mg/dL)	Ureia/sérica (mg/dL)	N.U /sangue (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
FS	**27,47**	**12,8**	**8,02**	**3,73**	**54,42**	**25,57**	**1,3563**
ULL 0	**28,18**	**13,13**	**10,65**	**4,96**	**54,02**	**25,39**	**1,4113**
ULL 44	**31,88**	**14,85**	**10,57**	**4,92**	**50,58**	**23,77**	**1,1562**
ULL 88	**32,23**	**15,02**	**7,88**	**3,67**	**42,95**	**20,18**	**1,2875**
Média	**29,94**	**13,95**	**9,28**	**4,32**	**50,49**	**23,73**	**1,3028**
EPM	**1,56**	**0,73**	**0,6**	**0,28**	**2**	**0,94**	**0.05**
L*	**0,1952**	**0,1952**	**0,109**	**0,1089**	**0,0241***	**0,0241***	**0,3821**
Q*	**0,3609**	**0,3609**	**0,3714**	**0,3713**	**0,5857**	**0,5857**	**0,1257**
1 vs. (2 + 3 + 4)	**0,3119**	**0,3117**	**0,1748**	**0,1748**	**0,1589**	**0,1589**	**0,5890**
2 vs. (3 + 4)	**0,2635**	**0,2635**	**0,2769**	**0,2769**	**0,0709**	**0,0709**	**0,1849**
1 vs. 2	**0,8568**	**0,8564**	**0,0871**	**0,0871**	**0,928**	**0,928**	**0,7328**
1 vs. 3	**0,2702**	**0,2701**	**0,0958**	**0,0958**	**0,3908**	**0,3908**	**0,2235**
1 vs. 4	**0,2349**	**0,2347**	**0,9271**	**0,927**	**0,017***	**0,017***	**0,6699**
2 vs. 3	**0,3531**	**0,3531**	**0,9601**	**0,9603**	**0,4412**	**0,4412**	**0,1253**
2 vs. 4	**0,31**	**0,31**	**0,0728**	**0,0728**	**0,0206***	**0,0206***	**0,4455**
3 vs. 4	**0,9287**	**0,9286**	**0,0803**	**0,0803**	**0,0971**	**0,0971**	**0,4188**

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88. N.U = nitrogênio ureico. * = Significativo a 5% de probabilidade.

Considerando que o desbalanceamento de proteína e aminoácidos na dieta pode resultar em aumentos na concentração de ureia sérica e na excreção urinária de compostos nitrogenados, esforços têm sido feitos para estimar a excreção urinária de N ureico, a partir do nitrogênio ureico no leite ou do nitrogênio ureico no sangue, que podem ser facilmente determinados.

A substituição do farelo de soja pela ureia convencional e da ureia protegida pelo farelo de soja, utilizado no fornecimento da dieta à base de cana-de-açúcar, apresentou variáveis semelhantes entre as dietas experimentais na concentração de ureia no leite e de nitrogênio ureico no leite, e os resultados das médias foram 29,94 mg/dL e 13,95 mg/dL, respectivamente (Tabela 4).

O resultados encontrados neste estudo foram inferiores aos encontrados por Silveira et al. (2012), ao analisar a substituição de farelo de soja por Optigen II, em vacas lactantes, que observaram um aumento do teor de NUL, passando de 16,3 para 17,0 mg/dL, respectivamente. Logo, a dieta à base de cana-de-açúcar promoveu valores satisfatórios de nitrogênio ureico no leite, pelo fato de a presença de carboidratos fermentáveis em combinação com os compostos nitrogenados indicarem um melhor sincronismo ruminal.

Inostroza et al. (2010) observaram que a substituição parcial de farelo de soja por OptigenII aumentou o teor de NUL. Esse fato não foi observado por Santos et al. (2011), quando o farelo de soja foi substituído por OptigenII mais polpa cítrica, nem por Souza et al. (2010), quando o farelo de soja foi substituído por OptigenII mais casca de soja. Esses resultados sugerem que, mesmo com baixa substituição de N de farelo de soja por N de OptigenII, a estratégia de substituição de farelo de soja por concentrados energéticos parece induzir uma resposta mais desejável em nitrogênio ureico no leite, comparativamente à substituição por carboidratos lentamente degradáveis de forrageiras, os quais não permitem um sincronismo ruminal tão preciso com a amônia produzida (Van Soest et al., 1991).

As médias de excreção urinária obtidas de ureia e de nitrogênio ureico foram de 9,28 e 4,32 mg/dL, não havendo diferença significativa entre as dietas experimentais. Isso, possivelmente, indicou equilíbrio no aproveitamento dietético. Valadares et al. (1997) sugeriram que a reabsorção de ureia não é um percentual constante da fração filtrada, possibilitando maior conservação de ureia a baixas ingestões e sua maior excreção a altas ingestões de proteína dietética.

Os resultados referentes à concentração de ureia sérica e de nitrogênio úrico no soro, entre os tratamentos, foram de 50,49 e 23,73 mg/dL, respectivamente. Foi observado um comportamento linear decrescente, de acordo com o aumento da proporção de ureia de liberação lenta. Apesar de os valores de ureia sérica e de nitrogênio ureico no sangue estarem em níveis elevados, o aumento gradativo da ureia protegida nas dietas pareceu melhorar a eficiência da utilização de amônia no rúmen,

daí resultando em diminuição do aumento da concentração de nitrogênio ureico no sangue. No entanto, Oliveira et al. (2001) encontraram aumento no N-ureico plasmático à medida que elevaram os níveis de ureia no concentrado das vacas e atribuíram essa resposta à redução da eficiência da utilização de amônia no rúmen. Valadares et al. (1997) afirmaram que as concentrações de N no plasma e na urina estão correlacionadas e que valores de 14,0 a 16 mg/dL de N ureico plasmático representariam limites, a partir dos quais estariam ocorrendo perdas de nitrogênio da dietética.

A concentração de ureia sanguínea tem sido empregada como indicador do metabolismo proteico e está diretamente relacionada aos níveis proteicos da ração e da relação energia:proteína da dieta (Gonzáles & Scheffer, 2002). Valores menores que 15 mg/dL para concentração de ureia sanguínea são indicados por Gonzáles et al. (2000). Médias mais altas de ureia plasmática nos valores de 16 a 42 mg/dL para mestiços (Holandês x Zebu) foram citadas por Williams et al. (2002). Esses valores correspondem à eficiência microbiana e, provavelmente, representariam o limite, a partir do qual estaria ocorrendo perda de proteína para esses animais.

Paula et al. (2009) avaliaram os parâmetros de ureia plasmática de vacas mestiças (holandês x zebu) canuladas no rúmen, inoculadas ou não, com 28 g/animal/dia de nitrogênio não-proteico. As dietas foram: controle (TC) sem inoculação de fonte de nitrogênio, inoculação de ureia pecuária (TU) e inoculação de ureia protegida(TUP). A análise do sangue mostrou que, a partir de duas horas e meia, a concentração de ureia sérica foi mais elevada para tratamento com ureia pecuária, enquanto que, para tratamento com ureia protegida, essa elevação deu-se somente a partir de quatro horas, igualando-se, nesse momento, ao tratamento com ureia pecuária e diferenciando-se do tratamento controle, permanecendo elevada até o momento de 24 horas. Considerando o período total de observação e os valores médios encontrados – 12,52; 16,21 e 14,76 mg/dL, para os tratamentos TC, TU e TUP, respectivamente – é possível inferir que o risco de intoxicação com o uso de ureia pecuária, desde os primeiros momentos de ingestão até o equilíbrio da reciclagem pela via fígado/saliva/rúmen, é superior no tratamento com ureia pecuária em comparação ao tratamento com ureia polímero, pois aquele apresentou concentração sérica de ureia 8,94% mais elevada.

Os efeitos dos altos níveis de nitrogênio ureico circulante parecem estar associados à possível queda no pH do tecido uterino e provável aumento na taxa de secreção de prostaglandina, que são mudanças ambientais prejudiciais à sobrevivência

dos embriões (Butler, 1998). Nesta pesquisa, as novilhas que consumiram suplementos com baixa PNDR apresentaram concentração plasmática média de N-ureico de 19,38 mg/dL (Tabela 8) e, provavelmente, teriam seu desempenho reprodutivo prejudicado com a administração contínua desse tipo de dieta.

Pesquisas realizadas com vacas e novilhas de leite evidenciam que o aumento no nível plasmático de N-ureico para valores acima de 19 a 20 mg/dL comprometem a fertilidade e, consequentemente, as taxas de concepção (Elrod & Butler, 1993; Ferguson et al., 1993). No entanto, concentrações abaixo de 8 mg/dL indicam *déficit* proteico no rúmen, seja por baixa ingestão ou alto escape, normalmente resultando em baixo desempenho (Hammond, 1992).

É consenso que há correlação positiva entre as concentrações de ureia plasmática e de ureia urinária, bem como entre a concentração de ureia na urina com a ingestão de N e a relação proteína:energia da dieta (Harmeyer & Martens, 1980; Van Soest, 1994); fator não observado neste estudo, utilizando diferentes tipos de ureia.

Não houve alterações nos valores séricos de creatinina, obtendo-se valores semelhantes aos descritos para bovinos sadios por Roussel et al. (1997); Fagliari et al. (1998); e Morais et al. (2000). A creatinina, a partir da reação da creatina para formar fosfocreatina muscular, constitui um indicativo da função renal, sendo somente filtrada e não reabsorvida pelos rins. A creatinina não está associada à alimentação do animal, diferentemente da ureia, descrita anteriormente. As dosagens de ureia e de creatinina séricas, indicadas no controle da função renal, revelaram que a cana-de-açúcar, somada à substituição de ureia convencional e de ureia protegida, administrada por 84 dias, não foi capaz de causar alterações renais.

Os resultados encontrados para variáveis na excreção de derivados de purina, alantoína, purinas absorvíveis, nitrogênio microbiano, proteína microbiana e relação proteína microbiana e nutrientes digetíveis totais foram semelhantes entre as dietas experimentais, com médias de 321,68 mmol/dia, 296,35 mmol/dia, 334,61 mmol/dia, 210,6 g/dia, 1316,27 g/dia e 127,36 g/kg, respectivamente, apresentadas na Tabela 5. Nas condições do presente estudo, a substituição parcial do farelo de soja por ureia convencional e ureia de liberação lenta não influenciaram na capacidade da produção da proteína microbiana, o que pode ser explicado pelo fato de que a cana-de-açúcar contém uma boa quantidade de carboidratos altamente fermentáveis, permitindo que as bactérias possam utilizar o nitrogênio adicional para transformá-lo em proteína microbiana.

Tabela 5 - Médias de excreções de derivados de purina, síntese de nitrogênio, proteína microbiana e eficiência microbiana em vacas lactantes segundo as dietas experimentais.

Dietas experimentais	Derivados/purina (mmol/dia)	Alantoina (mmol/dia)	Purinas/absorvidas (mmol/dia)	N/micro (g/dia)	P/micro (g/dia)	P/micro/NDT (g/kg)
FS	**335,17**	**309,53**	**349,6**	**220,03**	**1375,22**	**127,19**
ULL 0	**317,79**	**291,27**	**330,89**	**208,25**	**1307,59**	**133,74**
ULL 44	**337,52**	**311,61**	**353,89**	**222,28**	**1389,24**	**128,64**
ULL 88	**296,27**	**273,02**	**304,81**	**191,85**	**1199,03**	**124,17**
Média	**321,68**	**296,35**	**334,61**	**210,6**	**1316,27**	**127,36**
EPM	**27,1**	**25,70**	**31,7**	**20,0**	**125,0**	**11,9**
L*	**0,7481**	**0,7306**	**0,7577**	**0,7577**	**0,7577**	**0,9002**
Q*	**0,5601**	**0,5825**	**0,5570**	**0,5570**	**0,5570**	**0,8073**
1 vs. (2 + 3 + 4)	**0,7332**	**0,7283**	**0,7472**	**0,7472**	**0,7472**	**0,9492**
2 vs. (3 + 4)	**0,9872**	**0,9844**	**0,9770**	**0,9770**	**0,9770**	**0,8008**
1 vs. 2	**0,7877**	**0,7680**	**0,8051**	**0,8051**	**0,8051**	**0,8431**
1 vs. 3	**0,9709**	**0,9732**	**0,9625**	**0,9625**	**0,9625**	**0,9634**
1 vs. 4	**0,5484**	**0,5568**	**0,5565**	**0,5565**	**0,5565**	**0,9236**
2 vs. 3	**0,7599**	**0,7426**	**0,7690**	**0,7690**	**0,7690**	**0,8774**
2 vs. 4	**0,7390**	**0,7681**	**0,7313**	**0,7313**	**0,7313**	**0,7724**
3 vs. 4	**0,5247**	**0,5348**	**0,5259**	**0,5259**	**0,5259**	**0,8873**

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88; N/micro = nitrogênio microbiano. P/micro= proteína microbiana. NDT = nutrientes digestíveis totais. * = Significativo a 5% de probabilidade.

As excreções de derivados de purina tiveram resultados inferiores aos encontrados por Vasconcelos et al. (2010), quando constatou, em vacas holandesas sendo suplementadas com farelo de soja, valores de derivados de purina com média de 468,30 mmol/dia. Outros valores são citados na literatura: Oliveira et al., (2001), de 300,49 mmol/dia, com rações isoproteicas; e Pina et al. (2006), de 397,38 mmol/dia, com o fornecimento de dietas de diferentes fontes proteicas. Essa amplitude de variação nos resultados encontrados por diversos autores, segundo Oliveira (2001), pode estar relacionada a fatores como balanceamento das dietas, produção de leite dos animais e adição de fontes de nitrogênio não-proteico nas dietas.

Neste experimento, a média de excreção urinária de alantoína foi de 296,35 mol/dia, valor superior aos registrados para vacas leiteiras, de 211 mmol/dia, 191,5 mmol /dia e 179,75 a 284,56 mmol/dia, por Gonda e Lindberg (1997), Johnson et al. (1998) e Silva et al. (2001), respectivamente. Esses resultados descritos na literatura indicam que o nível de alantoína em vacas não é constante em todos os estádios fisiológicos e tratamentos dietéticos. O aumento dos níveis de ureia de liberação lenta na dieta com cana-de-açúcar não alterou a excreção de alantoína. A alantoína representou 92,1% do total de derivados de purina excretados. Este valor está próximo

aos encontrados por Oliveira et al. (2001), Vagnoni et al. (1997), Silva et al. (2001), Chizzotti et al. (2007) e Braga et al. (2012), isto é, 87,80%; 86,60%; 86,10%; 90,46% e 89,69%, respectivamente. Esses valores sugerem que a excreção de alantoína pode constituir uma boa variável para representar a excreção de derivados de purina, visando à estimativa da produção de proteína microbiana.

Chizzotti et al. (2007) observaram variação de excreções de alantoína em vacas leiteiras de alta, média e baixa produção de leite, com valores de 323,70; 268,48; 160,18 mmol/dia, respectivamente. Em seu trabalho, os autores constataram uma menor excreção de alantoína em vacas de baixa produção.

Os resultados encontrados de purinas absorvidas estão próximos aos da categoria de vacas de média produção constatado por Orellana Boero et al. (2001), em experimento com vacas de alta, média e baixa produção, cujos valores de purinas absorvidas são de 395,41; 316,84 e 169,08 mmol/dia, respectivamente. Gonzalez-Ronquillo et al. (2003) encontraram valores de 433,33; 338,31 e 153,39 mmol/dia, respectivamente.

O valor médio encontrado de N-microbiano, no presente estudo, foi de 210,6 g/dia, que é semelhante ao encontrado por Oliveira et al. (2001) e inferior à faixa de 278 a 419 g/dia encontrada por Valadares et al. (1999). Oliveira et al. (2001) trabalharam com vacas com produções médias diárias próximas (18,9 kg leite/dia) às produções médias obtidas no presente trabalho, entretanto, Valadares et al. (1999) trabalharam com vacas de alta produção. Segundo Smith (1975), depois que os microrganismos ruminais são adaptados aos compostos de liberação lenta, nenhum efeito desse produto é observado, pois a ureia de liberação lenta pode ser degradada na mesma intensidade da ureia convencional. A reciclagem de N mantém a concentração de N constante no rúmen (SMITH et al., 1975), o que pode ter contribuído para mascarar os efeitos das fontes de NNP.

A eficiência da síntese de proteína microbiana não foi afetada pela inclusão da ureia de liberação lenta na dieta. O valor médio encontrado foi de 127,36 g de PBmic/kg de NDT consumido, próximo ao valor sugerido pelo NRC (2001), de 130 gPBmic/kg de NDT. Essa ausência de variação na síntese de proteína microbiana pode estar relacionada ao balanceamento energético-proteico entre as dietas. O valor encontrado aqui foi superior ao encontrado por Moraes (2003), de 104 g de MCP / kg NDT, trabalhando com vacas Holandês × Zebu, recebendo suplementos com níveis crescentes de ureia (0; 1,2; 2,4; 3,6% com base na matéria natural).

Pina et al. (2010), compilando vários estudos que utilizam animais para o produção de carne e leite, submetidos a diferentes condições de alimentação, recomendam a eficiência microbiana de 120 g / kg de NDT como referência para condições tropicais. A maior produção microbiana está de acordo com o consumo mais elevado, o qual disponibilizou maior quantidade de substratos fermentáveis e elevou 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), selecionando microrganismos com menor tempo de geração e menor utilização de substratos para mantença microbiana e diminuindo a predação e a reciclagem de nutrientes, o que aumenta a eficiência microbiana.

De acordo com revisão feita por Santos et al. (1998), a proteína microbiana é a melhor fonte de aminoácidos disponíveis para síntese e produção de leite, estando também o farelo de soja entre as melhores fontes, uma vez que possui bom perfil de aminoácidos. Em revisão, Cherdthong et al. (2010) concluiram que a ureia de liberação lenta foi mais eficiente na fermentação ruminal, na síntese de proteína microbiana e na produção de leite, em detrimento da ureia convencional na alimentação de ruminantes. No nosso estudo, a utilização da ureia protegida não alterou a produção e a eficiência microbiana.

A eficiência de utilização da proteína verdadeira e das fontes de NNP pode ser interferida pela alta concentração de amônia no rúmen, observada normalmente de três a cinco horas após a alimentação com farelos proteicos, uma a duas horas após o fornecimento da ureia e em até 16 horas após fornecimento da ureia de liberação lenta (Guimarães Júnior et al., 2007). A otimização do uso da amônia depende do balanceamento da dieta, principalmente pela adição de concentrado energético, criando condições adequadas para utilização do NNP. As disponibilidades ruminais de energia e de N são os fatores nutricionais que mais afetam o crescimento microbiano (Clark et al., 1992) e, portanto, uma das hipóteses que poderia influenciar o crescimento microbiano pode estar relacionada à relação volumoso:concentrado.

4-CONCLUSÃO

As dietas contendo cana-de-açúcar com 30% de concentrado, com 2,1% de ureia na matéria seca, proporcionam balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana semelhantes.

5-REFERÊNCIAS

AKAY, V.; TIKOFSKY, J.; HOLTZ, C.; DAWSON, K.A. Optigen®1200: Controlled realease of non-protein nitrogen in the rumen. **Proceedings of the 20th Alltech Symposium**, p. 179-185, 2004.

AZEVEDO, E.B.; OSPINA-PATINO, H. SILVEIRA, A.L.F. et al. Suplementação nitrogenada com ureia comum ou encapsulada sobre parâmetros ruminais de novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, v.40, p.622- 627, 2010.

BACH,A.; CALSAMIGLIA,S.;STERN, M.D. Nitrogen Metabolism in the Rumen. **Journal of Dairy Science**, v.88, p 9-20, 2005.

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

BRAGA, J.M.S., VALADARES, R.F.D., PELLIZZONI, S.G. Estimation of endogenous contribution and urinary excretion of purine derivatives from the total digestible nutrient intake in Nellore heifers **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.8, p.1899-1906, 2012

BRODERICK GA. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 86: 1370-81. 2003.

BRODERICK, G.A.; STEVENSON, M.J.; PATTON, R.A. Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** v.92, p.2719–2728, 2009.

BUTLER, W.R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.9, p.2533-2539, 1998.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

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

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. **International feed research unit**. Aberdeen Rowett Research Institute, 21p. 1992.

CHERDTHONG, A; WANAPAT, M. Development of Urea Products as Rumen Slow-Release Feed for Ruminant Production: A Review. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**,V. 4, p. 2232-2241. 2010.

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite **Revista Brasileira de Zootecnia**., v.36, n.1, p.138-146, 2007.

CLAYPOOL, D.W.; PANGBORN, M.C.; ADAMS, H.P. Effects of dietary on high-producing dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.6833-837, 1980.

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.

COSTA V.A.C.; DETMANN E.; PAULINO M.F. Digestibilidade total e parcial e balanço nitrogenado em bovinos em pastejo no período das águas recebendo suplementos com nitrogênio não-proteico e/ou proteína verdadeira **Revista Brasileira de Zootecnia**., v.40, n.12, p.2815-2826, 2011.

ELROD, C.C., BUTLER, W.R. Reduction of fertillity and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. **Journal of Animal Science**, 71: 694 - 701, 1993.

FAGLIARI, J.J.; SANTANA. A.E.; LUCAS, F.A. Constituintes sanguíneos de bovinos lactentes, desmamados e adultos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**., v.50, p.263-271, 1998.

FERGUNSON, J.D., GALLIGAN, D.T., BLANCHARD, T. et al. Serum ures nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. **Journal of Dairy Science**, 76: 3742-3746, 1993.

GARCIA, A. Dosificacion de la urea en la l eche para predecir el balance nutricional en vacas lecheras. XXV **Jornadas Uruguayas de Buiatria/ IX Congresso Latinoamericano de Buiatria**, Paysandú, junho de 1997.

GARCIA - BAJALIL, C.M., STAPLES, C.R., RISCO, A.A. et al, Protein degradabillty and calcium salts of long chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive responses. **Journal of Dairy Science**, 8:1374- 1384, 1998.

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.

GOLOMBESKI, G.L.; KALSCHEUR, K.F.; HIPPEN, A.R. et al. Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.89, p.4395 - 4403, 2006.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica metabólica e nutricional. In: CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, Gramado. **Anais...** Porto Alegre, v.29, p.5-17. 2002.

GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO L.A.O. (Eds.) Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. **Porto Alegre**: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

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.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C.; TOMICH, T.R. Ureia na alimentação da vaca leiteira. In: Simpósio Mineiro de Nutrição de Gado de Leite (4. ed. 2007: Belo Horizonte, MG) **Anais...** Editor: Lúcio Carlos Gonçalves. Belo Horizonte: UFMG, p.71-82. 2007.

HALL, M.B.; HUNTINGTON, G.B. Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. **Journal Animal Science**, v.86, p.287-292, 2008.

HAMMOND, A.C. Use of blood urea nitrogen concentration to guide protein supplementation in cattle. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 3., 1992, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville, FL, University of Florida, Gainesville, FL, p. 9-18. 1992.

HARRISON, G.A.; TRICARICO, J.M.; DAWSON, K.A. Effects of urea and Optigen® II on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in rumen-simulating cultures. In: **Anais.** NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 22. Lexington. *Proceedings…* Lexington: Alltech, (CD-ROM). 2006.

HIGHSTREET, A., et al. Response of Holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. **Livestock Production Science**, v.129,p. 179–185, 2010.

HOFFMAN, P.C.; ESSER, N.M.; BAUMAN, L.M.; DENZINE, S.L.; ENGSTROM, M.; CHESTER-JONES, H. Short communication: effect of dietary protein on growth and nitrogen balance of Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.843-847, 2001.

HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**., Savoy, v. 63, p. 1707-1728, 1980.

HOJMAN, D. Relationships between milk urea and production, nutrition and fertility traits in Israeli Dairy herds. **Journal of Dairy Science**. 87: 1001-11. 2004.

IMAIZUMI, H.; SANTOS, F.A.P.; BITTAR, C.M.M. Diet crude protein content and sources for lactating dairy cattle **Science Agricola.** (Piracicaba, Braz.), v.67, n.1, p.16-22, January/February 2010.

INOSTROZA, J.F.; SHAVER, R.D.; CABRERA, V.E. et al. Effect of diets containing a controlled-release urea product on milk yield, milk composition, and milk component yields in commercial Wisconsin dairy herds and economic implications. **The Professional Animal Scientist**, v.26, p.175-180, 2010.

JOHNSON, R. R.;CLEMENS, E. T**.** Adaptation of rumen microorganisms to biuret as an NPN supplement to low quality roughage rations for cattle and sheep. **Journal of Nutrition**, v.103, p.494–502, 1973.

JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; RILEY, R.E. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.9, p.2408-2420, 1998.

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

MORAES, E.H.B.K. **Suplementos múltiplos para recria e terminação de novilhos mestiços em pastejo durante os períodos de seca e transição seca-águas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 69p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.

MORAIS, M.G.; RANGEL, J.M.; MADUREIRA, J.S. et al. Variação sazonal da bioquímica clínica de vacas aneloradas sob pastejo contínuo de *Brachiaria decumbens*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**., v.52, p.98-104, 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed.rev. Washington, D.C.: National Academic Press, 381p. 2001.

NUSSIO, L.G.; SCHMIDT, P.; PEDROSO, A.F. Silagem de cana-de-açúcar. In: Forragicultura e Pastagens: Temas em Evidência Sustentabilidade, 1., 2003, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, p.49-74. 2003.

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 ureia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **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.

PAULA, A.A.G.; FERREIRA, R.N.; ORSINE, G.F. et al . Ureia polímero e ureia pecuária como fontes de nitrogênio solúvel no rúmen : parâmetros ruminal e plasmático. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, p.188, 2009

PAYNE, J.M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. New York : Oxford University, 179p. 1987.

PEREIRA, K.P.; VÉRAS,A.S.C.; FERREIRA, M.A. Balanço de nitrogênio e perdas endógenas em bovinos e bubalinos alimentados com níveis crescentes de concentrado**, Acta Scientiarum Animal *Science*.** Maringá, v. 29, n. 4, p. 433-440, 2007

PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Síntese de proteína microbiana concentrações de ureia em vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1551-1559, 2006.

PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. et al. Níveis de inclusão e tempos de exposição do óxido de cálcio à cana-de-açúcar sobre parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhas Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.7, p.1579-1586, 2010.

ROY, B.; BRAHMA, B.; GHOSH, S.; ANKAJ, P.K.; MANDAL, G. Evaluation of milk urea concentration as useful indicator for dairy herd management: a review. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, p.1-19, 2011.

ROUSSEL, A.J.; WHITNEY, M.S.; COLE, D.J. Interpreting a bovine serum chemistry profile: part1. **Veterinary Medicine**. v.92, p.553-558, 1997.

SANTOS, F.A.P.; SANTOS, J.E.P.; THEURER, C.B. et al. Effects of rumen undegradable protein on dairy cow performance: a 12 year literature review. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3182-3213, 1998.

SANTOS, J.F.; DIAS JUNIOR, G.S.; BITENCOURT, L.L. et al. Resposta de vacas leiteiras a substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.423-432, 2011.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **User's guide.** Cary: SAS Institute, 2002. 525p.

SILVA, S.C. A cana-de-açúcar como alimento volumoso suplementar. In: PEIXOTO, A.M. et al. (Eds). **Volumosos para bovinos**. Piracicaba: FEALQ, p. 59-74. 1993.

SILVA, D. J.; A. C. QUEIROZ. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 235p. 2002.

SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Ureia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.

SILVEIRA, V.A.; LOPES, N.M.; OLIVEIRA, R. C.; Substituição parcial de farelo de soja por ureia de liberação lenta em rebanhos leiteiros comerciais **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, Salvador, v.13, n.2, p.383-395 abr./jun., 2012.

SMITH, R. H.; SALTER, D. N.; SUTTON, J. D.;MCALLAN, A. B**.** Synthesis and digestion of microbial nitrogen compounds and VFA production by the bovine. Tracer studies on non-protein nitrogen for ruminants. **International Atomic Energy Agency, Vienna**, Austria. Vol. 2, p. 81–93, 1975.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; van SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

SOUSA, V.L.S; ALMEIDA, R; SILVA, D.F.F.S; PIEKARKI, P.R.B; JESUS, C.P. Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição de leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia,** v.62, n.6, p.1415-1422, 2010.

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

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583- 3597, 1991.

VASCONCELOS, A.M.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C. Parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com soja e seus subprodutos, **Revista Brasileira de Zootecnia**., v.39, n.2, p.425-433, 2010.

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

VALADARES FILHO, S.C. Eficiência da 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, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.355-388. 1995.

VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C.; SAMPAIO I.B. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.1270-1278, 1997.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa 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.2686-2699, 1999.

VASCONCELOS, A.M.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C. Parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com soja e seus subprodutos1, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.425-433, 2010

VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A.; ØRSKOV, E.R. 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.

WILLIAMS, M.J.; CHASE JR., C.C.; HAMMOND, A.C. Diet quality and performance of heifers in the subtropics. **Agronomy Journal**, v. 94, p. 88-95, 2002.

CAPÍTULO III

Fontes de ureia na alimentação em vacas lactantes: Parâmetros sanguíneos e bem estar animal.

Resumo: Objetivou-se analisar os parâmetros sanguíneos e bioquímicos de vacas alimentadas com dietas constituídas pela substituição parcial do farelo de soja por ureia convencional e ureia protegida. Utilizaram-se oito vacas mestiças Holandês x Zebu. As vacas foram confinadas, sendo distribuídas aleatoriamente, alocadas a uma sequência de quatro dietas experimentais, em delineamento distribuído em dois quadrados latino 4x4, realizados simultaneamente. FS - farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%. Os animais receberam dietas contendo 70% de volumoso (cana-de-açúcar) e 30% de concentrado. Os períodos experimentais foram de 21 dias, sendo o período compreendido entre o 1° e o 14° dia considerado de adaptação dos animais às dietas fornecidas e o período entre o 15° ao 21° dia, o de coleta de amostras, com duração total de 84 dias. Os resultados relativos aos números de hemácias apresentaram média de 6,15 milhões/mm³. A inclusão de 88% de ureia de liberação lenta na dieta em substituição ao farelo de soja representou uma diferença significativa na quantidade de eritrócitos, com um aumento dessas células em 18,5%, quando comparado ao tratamento controle. Os valores de concentração de hematócrito promoveram um efeito quadrático entre os tratamentos. Não houve diferença significativa para as variáveis volume globular médio e concentração de hemoglobina globular média entre as dietas (P<0,05). As médias encontradas foram 42,365 pg, 32,35%, respectivamente. Os resultados para a substituição das fontes de nitrogênio pelo farelo de soja, em 2,1% de matéria seca utilizada no fornecimento da dieta, foram semelhantes paras as variáveis na concentração sanguínea de leucócitos, linfócitos e eusinófilos entre as dietas (P<0,05). As médias encontradas foram 21,734; 8445,3; 1106,5; 9420,4; 2370,98 mm³, respectivamente. Os resultados para números de plaquetas apresentaram média de 343,52 mm³. A inserção de ureia de liberação lenta, em 88%, substituindo o farelo de soja na dieta, resultou em diferença significativa na quantidade de plaquetas, com um aumento em 34,6%, quando comparado ao tratamento controle. As variáveis para a amônia, as proteínas totais, a albumina, a globulina, a gamaglutamiltransferase, o lactato desidrogenase, a glicemia e o aspartato amino transferase apresentaram resultados semelhantes entre as dietas (P<0,05). As médias encontradas foram 322,07 µMol/L, 6,799 g/dL 2,6 g/dL 4,199 g/dL 11,978 U/L 1210,28 U/L 67,97 mg/dL, respectivamente.

Palavras–chave: hemograma, ureia convencional, ureia encapsulada, vacas de leite.

Chapter III

Urea sources in the diet of lactating cows: blood parameters and animal well fair

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect on blood and biochemical parameters of cows fed with a diet in which the soybean meal was partially substituted by conventional urea and by protected urea. Eight crossbred cows (Holandês x Zebu) were confined and randomly assigned to four sequential diets distributed in two 4 x 4 Latin squares simultaneously: SM = soybean meal; SRU 0 = conventional urea (CU) 100%/slow release urea (SRU) 0%; SRU 44 = CU 56%/SRU 44%; SRU 88 = CU 12%/SRU 88%, Animals were fed on diets containing sugar cane (70%) and concentrate (30%). The diets were offered to the animals during 21 days. The adaptation period lasted from day 1 to day 14, and samples were collected from day 15 to day 21. The total duration of the experiments was of 84 days. The results for the numbers of red blood cells had an average of 6.15 million / mm ^{3}. The inclusion of 88% urea slow release in the diet as a replacement for soybean meal was a significant difference in the number of erythrocytes, as these cells increased by 18.5% compared to control. The concentration values of hematocrit promoted a quadratic between treatments. No significant differences for the variables mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin concentration between diets (P <0.05). The averages were 42.365 pg, 32.35% respectively. The results for the replacement of the nitrogen sources soybean meal, 2.1% dry matter utilized in the diet were similar paras variables in the blood concentration of leukocytes, lymphocytes and eosinophils among treatments (P <0, 05). The averages were 21.734, 8445.3, 1106.5, 9420.4, 2370.98 mm ^{3}, respectively. The results for numbers of platelets had an average 343.52 mm ^{3}. The insertion of slow release urea, 88%, replacing the soybean meal diet resulted in a significant difference in platelet count, an increase by 34.6% compared to control. Variables for ammonia, total protein, albumin, globulin, the gamma-glutamyltransferase, lactate dehydrogenase, glucose and aspartate amino transferase showed similar results between diets (P <0.05). The averages were found 322.07 mmol / l, 6.799 g / dl 2.6 g / dl 4.199 g / dl 11.978 U / L 1210.28 U / L 67.97 mg / dL, respectively.

Keywords: blood count, urea conventional coated urea, milk cows.

1-INTRODUÇÃO

A ideia de aproveitar a cana-de-açúcar como forragem para alimentação de bovinos é muito antiga. A facilidade de seu cultivo, a execução da colheita justamente na época seca do ano e a grande produção de forragem por área, tornaram-na um alimento de grande interesse entre os criadores (Rodrigues, 1999).

A cana-de-açúcar possui elevado teor de carboidratos não estruturais, que são fontes de energia prontamente disponíveis, contudo, apresenta baixo teor de proteína e minerais. O baixo teor de proteína é corrigido com a adição de uma fonte de nitrogênio não-proteico (NNP), como a ureia.

De fato, enfatizar a produtividade em detrimento do bem-estar animal na agricultura tem causado consequências sérias para os animais de produção. A evidência científica demonstra que os animais confinados em sistemas intensivos podem experimentar frustração e angústia, e podem sofrer sob os regimes da produção moderna, que é extensa. Estes estudos corroboram, conclusivamente, que as baias individuais para bovinos são simplesmente ambientes não apropriados.

Os ruminantes são capazes de transformar em proteína verdadeira tanto o nitrogênio, derivado da proteína verdadeira, que são aminoácidos de cadeia ramificada e peptídeos, quanto o proveniente de compostos nitrogenados não-proteicos, de alto valor nutritivo (Pereira et al., 2009). A presença dos microrganismos do rúmen viabiliza a utilização de compostos, como as fontes de PDR, na alimentação fornecida aos bovinos (Carareto, 2011).

O uso de ureia proporciona várias vantagens na alimentação de ruminantes, embora sua utilização inadequada possa trazer sérios danos à saúde animal, devido a sua potencial toxicidade. Na verdade, a intoxicação nos ruminantes não se dá por causa da ureia, mas sim pela amônia gerada do primeiro composto, através da fermentação ruminal. (Antonelli et al., 2009)

A rápida liberação de amoníaco, procedente da hidrólise de quantidades potencialmente tóxicas de ureia no rúmen, contribui para a elevação na concentração de amônia e no pH ruminal, o que, consequentemente, causa alteração no gradiente de permeabilidade do epitélio, favorecendo a passagem de amônia à corrente sanguínea, que atinge o fígado (Antonelli et al., 2009). No meio intracelular, a amônia impede o ciclo de Krebs, por meio do bloqueio por saturação do sistema glutamina-sintetase,

resultando em diminuição da produção de energia e inibição da respiração celular (Antonelli, 2003).

O conceito de que a taxa de liberação de nitrogênio amoniacal deve coincidir com a taxa de digestão dos carboidratos é cada vez mais claro (Castaneda et al., 2009). Esse fato tem levado a indústria a buscar o desenvolvimento de compostos de liberação lenta do nitrogênio não proteico, com menores riscos de intoxicação (Pires et al., 2004). A avaliação do perfil metabólico em vacas de leite é uma abordagem recente, que vem despertando o interesse de pesquisadores.

Diversos estudos propõem o acompanhamento de parâmetros hematológicos para monitorar a saúde do rebanho leiteiro e relatam a associação destes com diferentes patologias (Garcia-navarro, 2005).

O estudo da composição bioquímica do sangue é de longa data, principalmente vinculada à patologia clínica em casos individuais. Na década de 1970, Payne e colaboradores em Compton (Inglaterra) ampliaram a utilização desse estudo, mediante o conceito de perfil metabólico, isto é, a análise de componentes sanguíneos aplicados a populações. O trabalho de Payne, aplicado inicialmente a rebanhos leiteiros, foi ampliado a outras espécies, com aplicações práticas no manejo alimentar (Payne & Payne, 1987).

Objetivou-se avaliar os parâmetros sanguíneos e bioquímicos de vacas alimentadas com dietas constituídas pela substituição parcial do farelo de soja por ureia convencional e ureia protegida.

2-MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Paulistinha, localizada no município de Macarani, Bahia, e na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), no *campus* de Itapetinga, Bahia. Foram utilizadas 8 vacas mestiças Holandês x Zebu, de terceira ou quarta lactação, com produção anterior entre 3.000 e 4.000 kg, ajustado para 305 dias. Apresentavam peso corporal de 445 kg ± 9 kg, e aproximadamente com 60 dias de lactação, no início do período experimental.

As vacas foram confinadas, sendo distribuídas aleatoriamente, alocadas a uma sequência de quatro dietas experimentais, em delineamento distribuído em dois quadrados latino 4x4, realizados simultaneamente. FS - farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%. Os períodos experimentais foram de 21 dias, sendo o período compreendido entre o 1° e o 14° dia considerado de adaptação dos animais às dietas fornecidas e o período entre o 15° ao 21° dia, o de coleta de amostras, com duração total de 84 dias. Os animais foram confinados em baias individuais cobertas com área de três metros quadrado com piso de areia, providas de comedouros e bebedouros.

As dietas foram calculadas para suprir as exigências de mantença, tendo em vista uma produção de 12 kg de leite/dia, com 3,5% de gordura, de acordo com o *Nacional Research Council* (NRC, 2001)**.**

Os animais receberam dietas contendo 70% de volumoso e 30% de concentrado (Tabela 1). O volumoso utilizado foi a cana-de-açúcar (*Saccharum*). Para compor os concentrados, foram utilizados: milho, trigo, soja, ureia e mistura mineral. As fontes de ureia utilizadas foram a ureia convencional e a ureia de liberação lenta − *Optigen®II (Alltech Inc., Nicholasville, USA),* tendo como controle dieta com farelo de soja. A mistura entre volumoso e o concentrado foi realizada no momento do fornecimento da alimentação.

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), variedade RB 72-454, foi colhida diariamente e triturada com folhas, em máquina forrageira, no momento do fornecimento. Semanalmente, amostras eram coletadas para determinação da MS e ajuste da relação volumoso:concentrado da dieta. A concentração média de açúcares solúveis (ºBRIX) do material analisado foi de 18,0°, analisado pelo refratômetro.

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Ingredientes % MS	DIETAS EXPERIMENTAIS			
	FS	ULL 0	ULL 44	ULL 88
Cana-de-açúcar	70,0	70,0	70,0	70,0
Milho grão moído	6,8	20,7	20,6	20,6
Farelo de Soja	22,0	6,0	5,9	5,9
Mistura mineral	0,7	0,7	0,7	0,7
Ureia	0	2,1	1,38	0,46
Ureia protegida	0	0	0,92	1,84
Calcário	0,5	0,5	0,5	0,5
% Nutriente				
MO	99,8	99,8	99,8	99,8
PB	15,8	17,5	16,5	15,6
NDT	72,5	71,5	71,9	71,1
FDN	48,9	52,0	50,2	49,3
EE	2,8	2,7	3,1	2,8
CNF	32,1	25,7	28,9	29,4

Mistura mineral:Cálcio - 165,00 g/kg;Fósforo - 78,00 g/kg; Enxofre - 26,00 g/kg; Magnésio - 20,00 g/kg; Sódio - 114,00 g/kg; Cobalto - 90,00 mg/kg; Cobre - 1.238,00 mg/kg; Cromo - 20,00 mg/kg; Ferro - 2.000,00 mg/kg; Iodo - 80,00 mg/kg; Manganês - 2.057,00 mg/kg; Selênio - 27,50 mg/kg; Zinco - 4.896,00 mg/kg; Flúor - 780,00 mg/kg .PB: proteína bruta; NDT: nitrogênio digestível total; FDN: fibra em detergente líquido; EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos. FS = farelo de soja. ULL = ureia de liberação lenta.

As dietas foram oferecidas pela manhã, às 7:00, e à tarde, às 16:00, em quantidade suficiente para resultar em, no mínimo, 10% do oferecido como sobra diária. As sobras foram coletadas e pesadas diariamente, pela manhã, antes da primeira alimentação, para efeito de ajuste de consumo. O consumo diário de matéria natural foi determinado subtraindo-se do total de alimento oferecido, nas duas alimentações, o peso das sobras do 14° ao 21° dia de cada período. As vacas foram pesadas no início e no final de cada período experimental, para estimar o consumo de nutrientes em porcentagem do peso corporal e para verificação da variação de peso corporal de cada tratamento.

Foram coletadas amostras diárias de cada ingrediente da dieta e das sobras, por animal e amostras compostas foram formadas, com base em quantidades de matéria natural. Essas amostras foram desidratadas em estufa de ventilação forçada, por 72h, a 55ºC, e trituradas em moinho do tipo *Thomas-Willey* com peneira de 1 mm. Uma subamostra foi desidratada em estufa de 105ºC, por 24 horas, para determinação da matéria seca definitiva. Posteriormente, o consumo de matéria seca foi calculado, multiplicando-se o valor de matéria seca da dieta pelo consumo diário de matéria natural.

As análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio total, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) dos alimentos, das sobras e das fezes foram realizadas segundo os procedimentos descritos por Silva & Queiroz (2002).

Para as análises de extrato etéreo, pesaram-se 2,0 g das amostras de cana, sobras, fezes e concentrados, as quais foram embrulhadas em guardanapos de papel-seda (14,0 cm × 14,0 cm), em forma de cartuchos. As extremidades foram grampeadas e as amostras foram levadas à estufa de ventilação forçada, a 55°C, por 12 horas, onde foram mantidas em dessecador até atingir temperatura ambiente e, posteriormente, pesadas (Silva & Queiroz, 2002).

Cada cartucho foi colocado nas conexões extratoras fracionadas soxlet e mantidos sob aquecimento por 5 horas, para extração da gordura com éter de petróleo, adicionando- se, aproximadamente, 30 mL de éter por cartucho, em balões redondos de fundo chato com capacidade para 500 mL. Após a extração, os balões foram novamente levados à estufa de ventilação forçada, a 55°C, por 12 horas. O teor de gordura foi obtido pela diferença entre os pesos dos balões, antes e após a extração, e depois foi corrigido para MS (Silva & Queiroz, 2002).

A porcentagem de carboidratos totais (CT) foi obtida pela equação: 100 – (%PB + %EE +%cinzas) e a porcentagem de CNF foi calculada como 100 - (%FDNcp + %PB + %EE + %cinzas) (Sniffen et al., 1992). Para o cálculo de NDT, utilizou-se a equação proposta pelo NRC (2001):

NDT = PBD + 2,25 x EED + FDNcpD + CNFD.

Em que:

PBD = proteína bruta digestível;

EED = extrato etéreo digestível

FDNcpD = fibra em detergente neutro (corrigida para cinzas e proteína) digestível

CNFD = carboidratos não-fibrosos digestíveis.

A coleta de sangue foi realizada na veia jugular, no 21º dia, aproximadamente 4 horas após o fornecimento da alimentação da manhã, utilizando-se tubos (*VacutainerTM*) de 5 mL. Em seguida, as amostras de sangue foram transferidas para o laboratório, centrifugadas a 3.500 rpm, durante 10 minutos, e o soro, acondicionado em microtubos de 5 mL, foi mantido congelado (–20°C) até a realização das análises. As concentrações de creatinina na urina e de ureia na urina e no soro foram estimadas

utilizando-se *kits* comerciais (Bioclin). A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0,4667. Os teores urinários de alantoína foram estimados por métodos colorimétricos, conforme especificações de Chen e Gomes (1992), e o teor de nitrogênio total, estimado pelo método de Kjeldhal (Silva & Queiroz, 2002).

Tabela 2. Parâmetros sanguíneos iniciais dos animais observados em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais.

Eritrograma	DIETAS EXPERIMENTAIS			
	FS	ULL 0	ULL 44	ULL 88
Hemácia (milhões/mm³)	5,2	5,1	5,0	5,1
Hemoglobina (g/dL)	8,0	8,1	8,6	8,8
V.G. (%)	26,0	27,0	28,0	27,0
VGM (fL)	54,6	59,6	54,0	61,2
HGM (pg)	17,5	18,3	17,6	20,2
CHGM (g/dL)	32,1	31,2	30,6	32,6
Leucograma em mm³				
Leucócitos	7.600	7.100	11.000	11.600
Neutrofilos segmentados	2556	2736	2420	3480
Neutrofilos bastonetes	426	464	774	760
Linfócitos	3337	3420	5500	3400
Eusinofilos	781	608	232	1031
Plaquetas	272	251	213	250
Bioquimica				
Amônia (µMol/L)	176,8	200,0	195,0	190,0
Proteinas totais (g/dL)	7,8	8,4	7,6	8,2
Albumina (g/dL)	2,5	2,4	1,9	2,0
Globulina (g/dL)	3,9	3,2	3,0	3,3
GGT (U/L)	11,8	12,0	11,1	11,8
AST (UI/L)	83,8	68,0	110	83,8
Glicemia (mg/dL)	42,1	55,7	48,9	49,4

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88; hematócrito (VG%), hemoglobina, volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM).

Para avaliação do perfil metabólico, as amostras sanguíneas foram colhidas em tubos de colheita a vácuo (Vacutainer®), sem anticoagulante, para as determinações de ureia, creatinina e lactato- L (utilizando-se kits diagnóstico SIGMA no 555, Bayer® no T-011821-56, e SIGMA no 735-10, respectivamente). Outras amostras sanguíneas foram colhidas em tubos contendo EDTA (ácido etilenodiaminotetracético, sal

dissódico), para determinar amônia plasmática (kit Raichem® no 85444). Para a determinação do volume globular, utilizou-se o sangue total, acondicionado em tubos capilares de 75 mm, próprios para microhematócrito, que foram centrifugados a 13000 G, por 5 minutos. Utilizaram-se frascos contendo fluoreto de sódio para a determinação de glicose (kit SIGMA no 315-100).

Tabela 3. Valores de referência dos animais de acordo com as análises laboratoriais.

ERITROGRAMA	VALORES DE REFERÊNCIA
Hemácia (milhões/mm³)	**5.000.000 -10.000.000 (milhões/mm³)**
Hemoglobina (g/dL)	**8,0 - 15,0 (g/dL)**
V.G. (%)	**24-46 (%)**
VGM (fL)	**40 – 60 (pg)**
HGM (pg)	**14,4 - 18,6 (g/dL)**
CHGM (g/dL)	**30 -36 (%)**
LEUCOGRAMA em mm³	
Leucócitos	**(4.000 - 12.000) mm³**
Neutrofilos segmentados	**(600 - 4000) mm³**
Neutrofilos bastonetes	**(0 - 120) mm³**
Linfócitos	**(2500 - 7500) mm³**
Eusinofilos	**(0 - 2400) mm³**
Plaquetas	**(160.000 - 650.000) mm³**
BIOQUÍMICA	
Amônia (µMol/L)	**(0 -500) µMol/L**
Proteinas totais (g/dL)	**(6,7-7,5) g/dL**
Albumina (g/dL)	**(3,03-3,55) g/dl**
Globulina (g/dL)	**(3,0 - 3,5) g/dl**
GGT (U/L)	**(11,0 - 24,0) U/L**
AST (UI/L)	**(50,0 - 100) UI/L**
Glicemia (mg/dL)	**(45-75) mg/dL**

Hematócrito (VG%), hemoglobina, volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM). Aspartato amino transferase (AST), gamaglutamiltranspeptidase (GGT).

Para a quantificação dos parâmetros, foram utilizadas técnicas espectrofotométricas, com uso de *kits* reagentes específicos (LABTEST®, Brasil), utilizando-se, para isso, espectrofotômetro de luz visível (FEMTO 700 *Plus*®). A determinação do perfil proteico foi realizada por meio de concentrações de albumina (técnica do verde de bromocresol) e de ureia (técnica da urease), em soro refrigerado. As amostras de soro congelado (-18 ºC) foram utilizadas para determinação da γ-glutamiltransferase (GGT), pela técnica Szasz modificado, pelo método de molibdato de amônia (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil).

Os resultados foram interpretados estatisticamente e submetidos à análise de contrastes com 5% de significância de probabilidade, para determinar se as respostas obtidas comportavam-se com padrões lineares ou quadráticos. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos pelo programa SAS (2002).

3-RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4 - Médias de valores referentes a hemácias, hematócrito (VG%), hemoglobina, volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM), observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais.

Dietas experimentais	Hemácias	VG%	Hemoglobina	VGM	HGM	CHGM
FS	5,6	24,00	7,8	43,36	14,1	32,5
ULL 0	6,11	25,62	8,31	42,42	17,87	32,43
ULL 44	6,24	25,62	8,8	43,85	14,16	32,27
ULL 88	6,64	27,25	8,26	39,82	12,85	32,22
Valores referência	5.000.000 -10.000.000 (milhões/mm³)	24-46 (%)	8,0 - 15,0 (g/dL)	40 – 60 (pg)	14,4 - 18,6 (g/dL)	30 -36 (%)
Média	6,15	25,62	8,29	42,36	14,74	32,35
EPM	0,19	0,43	0,14	0,87	0,86	0,08
L*	0,3361	0,9950	0,0642	0,2742	0,0642	0,4261
Q*	0,7766	0,0359*	0,5883	0,1914	0,5883	0,8046
1 vs. (2 + 3 + 4)	0,0851	0,0020*	0,0044*	0,4425	0,6399	0,3624
2 vs. (3 + 4)	0,4428	0,2271	0,3282	0,7477	0,033*	0,3899
1 vs. 2	0,3144	0,0429*	0,0551	0,657	0,1034	0,8024
1 vs. 3	0,2089	0,0429*	0,0007*	0,8171	0,9779	0,372
1 vs. 4	0,0476*	0,0003*	0,081	0,1024	0,5802	0,2774
2 vs. 3	0,7915	1,000	0,067	0,5008	0,1089	0,5171
2 vs. 4	0,2896	0,0429*	0,8448	0,2242	0,0336*	0,3986
3 vs. 4	0,4214	0,0429*	0,0452*	0,0651	0,5616	0,8413

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88; * = Significativo a 5% de probabilidade.

Os valores médios encontrados para a contagem global de hemácias, hematócrito, hemoglobina, volume globular médio e hemoglobina globular média estão dentro dos padrões de valores sugeridos como normais pela literatura (Kaneko et al., 2008; Oliver et al., 2000).

Os valores de hemácias e concentração de hemoglobina globular média são úteis na avaliação da anemia, que é caracterizada por uma redução desses parâmetros. Os resultados para números de hemácias apresentaram média de 6,15 milhões/mm³. A inclusão de ureia de liberação lenta, em 88%, em substituição ao farelo de soja na dieta resultou em diferença significativa na quantidade de eritrócitos, com um aumento dessas células em 18,5%, quando comparado ao tratamento controle. Houve diferença significativa para a concentração de hemoglobina, sendo menor no tratamento controle, quando comparado aos demais tratamentos. A inclusão de 44% de ureia protegida em

substituição ao farelo de soja promoveu a maior concentração de hemoglobina, com valor de 8,8 mg/dL (tabela 2).

Segundo Swenson e Reece (1996), quanto maior o número de hemácias, maior a capacidade de oxigenação dos tecidos, já que durante a passagem dos eritrócitos pelos capilares pulmonares a hemoglobina combina-se com o oxigênio, formando a oxihemoglobina. Pode-se assumir, então, que os animais não apresentaram o quadro de anemia, pois não foi observada a redução do hematócrito, do número de eritrócitos ou da concentração de hemoglobina dos animais em nenhum dos tratamentos experimentais, quando comparados aos valores sugeridos como normais pela literatura (Feldman et al., 2000).

Os rins produzem um hormônio, a eritropoetina, que estimula a produção e o amadurecimento das células vermelhas do sangue, chamadas hemácias, e a incorporação do ferro dentro das hemácias. Uma das hipóteses pode está relacionada no fato de a ureia protegida ter alguma participação na produção dessas hemácias, pelo maior requerimento dos tecidos de oxigênio (Thrall, et al., 2007).

Os valores de concentração de hematócrito promoveram um efeito quadrático entre os tratamentos. O resultado médio foi de 25,62%. O tratamento controle teve a menor porcentagem de hematócrito de 24%. Apesar de as médias encontradas estarem dentro dos valores de referência, o resultado da inclusão de ureia convencional e da ureia protegida diferenciou estatisticamente do tratamento controle. A maior média encontrada foi no tratamento da proporção de 88% de ureia protegida, com 27,7% de hematócrito. Para Costa et al. (1985), o aumento de hematócrito pode ser justificado pelo aumento relativo no número de hemácias.

A substituição das fontes de nitrogênio pelo farelo de soja, em 2,1% de matéria seca utilizada no fornecimento da dieta, não representou diferença significativa para as variáveis volume globular médio e concentração de hemoglobina globular média, entre as dietas ($P<0,05$). As médias encontradas foram 42,365 pg, 32,35%, respectivamente, conforme a Tabela 2. O menor valor encontrado para a concentração de hemoglobina foi referente ao tratamento contendo 88% de ureia de liberação lenta, de 12,85 g/dL, quando comparado aos outros tratamentos. Essa média está abaixo dos valores sugeridos como normais pela literatura (Kaneko et al., 2008; Oliver et al., 2000). A concentração de hemoglobina globular média é uma mensuração da concentração de hemoglobina nas hemácias e é obtida aritmeticamente a partir do hematócrito (VG%) e

da concentração total de hemoglobina da amostra de sangue (Kerr, 2003). Não foram encontradas justificativas para esse resultado.

Tabela 5 - Médias de valores referentes a leucócitos, neutrofilos segmentados, neutrófilos bastonetes, linfócitos, eusinófilos e plaquetas, observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais.

Dietas experimentais	Leucócitos	Neut/seg	Neut/bas	Linfócitos	Eusinófilos	Plaquetas
FS	21.82	9.634,5	572,38	9.823,5	1.794,62	280,6
ULL 0	25	8.719,2	2.193,13	10.098	3.950,37	357,65
ULL 44	17.31	6.906,8	468,63	7.408,5	1.066,67	358,08
ULL 88	22.8	8.520,8	1.192,13	10.352	2.672,25	377,77
Valores referência	(4.000 - 12.000) mm³	(600 - 4000) mm³	(0 - 120) mm³	(2500 - 7500) mm³	(0 - 2400) mm³	(160.000 - 650.000) mm³
Média	21,734	8445,3	1106,5	9420,4	2370,98	343,52
EPM	3,14	1225,12	393,16	12,29	602,2	18,78
L*	0,721	0,9469	0,3379	0,9311	0,4039	0,5668
Q*	0,2265	0,549	0,1782	0,2909	0,0966	0,7518
1 vs. (2 + 3 + 4)	0,9812	0,6188	0,377	0,8171	0,6224	0,0129
2 vs. (3 + 4)	0,3695	0,7534	0,1166	0,6217	0,3351	0,7537
1 vs. 2	0,6149	0,8019	0,3438	0,9382	0,3659	0,0532
1 vs. 3	0,4762	0,5135	0,9157	0,3989	0,694	0,0520
1 vs. 4	0,8768	0,7625	0,6386	0,8821	0,6427	0,0177*
2 vs. 3	0,231	0,639	0,0868	0,3482	0,287	0,9909
2 vs. 4	0,7269	0,9557	0,4905	0,9429	0,5281	0,5956
3 vs. 4	0,3879	0,6715	0,4627	0,3054	0,4556	0,6035

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88; Neut/seg = neutrófilos segmentados. Neut/bas = neutrófilos bastonetes. * = Significativo a 5% de probabilidade.

Os resultados encontrados para a substituição das fontes de nitrogênio pelo farelo de soja, em 2,1% de matéria seca utilizada no fornecimento da dieta, foram semelhantes entre as dietas (P<0,05), para as variáveis na concentração sanguínea de leucócitos, linfócitos e eusinófilos. As médias encontradas foram 21,734; 8445,3; 1106,5; 9420,4; 2370,98 mm³, respectivamente, a conferir na Tabela 2.

A incidência de doenças infecciosas, principalmente mastite, pode também aumentar, devido à supressão das funções imunológicas. Com a presença da mastite, o número de leucócitos totais aumenta, principalmente em decorrência do aumento dos neutrófilos. Todavia, as capacidades funcionais dessas células são prejudicadas durante esse período de infecção. Campos et al. (2008) verificaram alterações de leucócitos em

vacas leiteiras, no inverno, de 5851,27 mm³, e no verão, de 10351,34 mm³. Essa observação já foi descrita por outros pesquisadores, que encontraram variações sazonais nas contagens de leucócitos totais em bovinos, sendo as maiores observadas durante o verão (Abt et al., 1966). O aumento dos leucócitos em nosso trabalho pode ser justificado por fatores que envolvem o quadro de mastite, associados ao período de verão. Outro fator comparado pode está relacionado a mudanças de ambiente dos animais. Antes de começar os experimentos, as análises dos animais que se encontravam no nível de pasto obtiveram valores de leucócitos normais com média de 9,32 mm³ para as dietas experimentais. E de acordo com as análises das dietas experimentais e os ambientes de confinamento, esses valores aumentaram para 21,82 mm³. Portanto, conclui-se que as baias individuais podem comprometer os leucócitos desses animais.

A leucocitose fisiológica induzida pela adrenalina, em bovinos, é caracterizada por neutrofilia, com aumento do número de linfócitos, e moderada eosinopenia (Silva et al., 2006). Isso justifica o quadro de leucocitose por uma infecção e o quadro de stress térmico nos animais.

Os resultados referentes aos números de plaquetas apresentaram média de 343,52 mm³. A inclusão de ureia de liberação lenta, em 88%, em substituição ao farelo de soja na dieta, apresentou diferença significativa na quantidade de plaquetas, com um aumento de 34,6%, quando comparado ao tratamento controle.

As plaquetas sanguíneas são derivadas dos megacariócitos, localizados na medula óssea, e produzidas pela fragmentação do citoplasma dos megacariócitos, sendo liberadas diretamente na circulação venosa, ao redor do espaço hematopoiético medular (Thrall et al. 2007). Apesar de ter sido evidenciado aumento no número de plaquetas, com a elevação da concentração de ureia de liberação lenta, não houve trombocitose, pois os valores não ultrapassaram os limites sugeridos como normais pela literatura (Keer, 2003) Sendo assim, o aumento das plaquetas pode ter decorrido de alterações metabólicas causadas pela alta ingestão de concentrado, associado à ureia convencional e a de liberação lenta, quando comparado ao tratamento controle, podendo ter havido maior atividade medular e/ou esplênica. Apesar de evidenciar leucocitose por neutrofilia nesses animais, acompanhada de linfocitose, só um animal apresentou sinais clínicos de mastite durante o período experimental.

Os resultados da substituição das fontes de nitrogênio pelo farelo de soja, em 2,1% de matéria seca utilizada no fornecimento da dieta, foram semelhantes paras as

variáveis de neutrófilos segmentados e neutrófilos bastonetes. Porém, ocorreu aumento dos neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes e linfocitose, quando comparados aos valores sugeridos como normais por Aengwanich et al., (2009) e Oliver et al. (2000). A recomendação da utilização de cana-de-açúcar associada à ureia tradicional está em 1% de ureia na matéria seca. A ingestão de 2,1% de ureia convencional e de ureia protegida na matéria seca pode gerar transtornos metabólicos subclínicos, que exigem a busca da homeostase do organismo, alterando o quadro leucograma dos animais.

Apesar de não haver uma diferença significativa entre os tratamentos, a dieta com 100% de ureia convencional promoveu um aumento dos valores de eosinófilos, em relação aos valores sugeridos por Aengwanich et al. (2009) e Oliver et al. (2000). A resposta ao aumento de eosinófilos pode estar associada a cargas parasitárias ou reações alérgicas do bovino. Como todas as vacas foram vermifugadas no mesmo período e alocadas em baias individuais, a utilização de 100% de ureia na dieta pode ter potencializado, por mecanismos metabólicos, o aumento de eosinófilos no organismo dos animais. Assim, pode-se inferir que as dietas podem ter proporcionado alterações metabólicas, podendo, em casos isolados, ser suficiente para causar prejuízos à saúde e ao desempenho dos animais confinados.

Tabela 6 - Médias de valores referentes à amônia, às proteínas totais, à albumina, à globulina, à gamaglutamiltransferase (GGT), ao lactato desidrogenase (LDH), à glicemia e ao aspartato amino transferase (AST), observadas em vacas lactantes, segundo as dietas experimentais.

Dietas experimentais	Amônia (µMol/L)	P. totais (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulina (g/dL)	GGT U/L	AST (UI/L)	Glicemia mg/dL
FS	295,45	6,88	2,60	4,277	12,46	111,93	68,38
ULL 0	359,31	6,73	2,61	4,126	12,61	101,45	73,12
ULL 44	315,63	6,96	2,61	4,352	10,1	96,93	56,42
ULL 88	317,91	6,60	2,56	4,04	12,73	115,26	73,95
Valores de referência	(0 -500) µMol/L	(6,7-7,5) g/dL	(3,03-3,55) g/dl	(3,0 - 3,5) g/dl	(11,0 - 24,0) U/L	(50,0 - 100) UI/L	(45-75) mg/dL
Média	322,07	6,799	2,6	4,199	11,978	106,39	67,97
EPM	16,01	0,1	0,04	0,09	0,96	2,89	3,21
L*	0,2876	0,5516	0,563	0,6186	0,9426	0,0127*	0,8806
Q*	0,4865	0,1353	0,6936	0,0954	0,1206	0,0168*	0,0053
1 vs. (2 + 3 + 4)	0,2353	0,5707	0,9136	0,53	0,6465	0,1828	0,9118
2 vs. (3 + 4)	0,1823	0,8103	0,848	0,6909	0,4262	0,422	0,1436
1 vs. 2	0,0881	0,5481	0,9823	0,4593	0,9306	0,125	0,4421
1 vs. 3	0,5759	0,7419	0,9559	0,712	0,1779	0,0327*	0,0601
1 vs. 4	0,5338	0,2705	0,7318	0,2505	0,8731	0,616	0,3679
2 vs. 3	0,2331	0,3564	0,9735	0,2728	0,1528	0,4988	0,0110*
2 vs. 4	0,2576	0,6062	0,7153	0,6714	0,9421	0,0473*	0,8929
3 vs. 4	0,9492	0,1585	0,6908	0,1356	0,1342	0,0108*	0,0080*

FS = farelo de soja; ULL 0 = ureia convencional (UC) 100% / ureia de liberação lenta (ULL) 0%; ULL 44 = UC 56% / ULL 44%; ULL 88 = UC 12% / ULL 88%; L* =linear Q*= quadrática; EPM: erro-padrão da média; Contrastes: 1 - FS; 2 - ULL 0; 3 - ULL 44; 4 - ULL 88; P. totais = proteína totais. * = Significativo a 5% de probabilidade.

A substituição das fontes de nitrogênio pelo farelo de soja, em 2,1% de matéria seca utilizada no fornecimento da dieta, não apresentou diferença significativa para as variáveis amônia, proteínas totais, albumina, globulina, gamaglutamiltransferase, lactato desidrogenase, glicemia e aspartato amino transferase, entre as dietas (P<0,05). As médias encontradas foram 322,07 µMol/L, 6,799 g/dL 2,6 g/dL 4,199 g/dL 11,978 U/L 1210,28 U/L 67,97 mg/dL, respectivamente(Tabela 4).

O valor médio de amônia no sangue foi de 322,07 µMol/L. Apesar de os resultados serem semelhantes, o menor resultado encontrado foi no tratamento controle com valor médio de 295,45 µMol/L e o maior valor foi de 359,31 µMol/L, no tratamento com 100% de ureia convencional. Isso pode justificar que a inclusão de nitrogênio não-proteico na dieta pode aumentar a concentração de amônia no sangue. A amônia é um produto de vida curta, rapidamente convertida no ciclo da ureia, que ocorre no fígado, e excretada; a menos que a amônia no sangue seja excessiva (Froslie, 1977). Santos (2005) observou quadros de intoxicação em bovinos nos valores de

médios de amônia de 1037 μMol/L. De acordo com os resultados obtidos do nosso experimento, os níveis de amônia se encontram seguros, quando comparados à concentração dos valores de uma intoxicação.

O valor médio de proteínas totais foi de 6,799 mg/dL. Essa média encontra-se normal, quando comparada aos valores sugeridos como normais por Aengwanich et al. (2009) e Oliver et al. (2000). A inclusão de ureia convencional e de ureia de liberação lenta não alterou os níveis de proteínas totais no sangue das vacas. González et al. (1996) verificaram que o aumento de proteínas totais plasmáticas, em função do aumento de globulinas dá-se simultaneamente a menores níveis de ureia. Em geral, o índice de proteínas totais é de pouco valor para avaliar o *status* nutricional proteico.

Os valores de albumina foram menores que os valores sugeridos como normais por Roussel et al. (1997). A albumina é sintetizada no fígado e representa 50% 65% do total de proteínas do plasma. Ela contribui com 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva proteica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais e bilirrubina (Gonzalez & Rocha, 1998). O nível de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na alimentação, apesar de suas mudanças no sangue ocorrerem lentamente. Para detectar mudanças significativas na concentração de albumina, é necessário um período mínimo de um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação dessa proteína no ruminante (Payne e Payne, 1987).

A concentração sanguínea de albumina pode ser afetada pelo funcionamento hepático, pela disponibilidade de aminoácidos (aporte proteico na ração) e pelas perdas durante doenças como, por exemplo, o parasitismo gastrointestinal. Outros autores afirmam que a diminuição das concentrações de albumina é produzida pela redução da capacidade de síntese no fígado, devido ao acúmulo de gordura que esse órgão sofre no início da lactação (Contreras, 2000).

Os níveis de albuminas são positivamente relacionados à performance produtiva e reprodutiva do animal (Payne & Payne, 1987). Esse conceito está de acordo com os achados de González e Rocha (1998), em trabalho realizado no sul do Brasil, com 4 rebanhos leiteiros. Neste trabalho, foram observados níveis mais elevados de albumina nas vacas de melhor produção leiteira.

O valor médio de globulina foi de 4,199 mg/dL. Esse resultado foi superior aos valores normais, quando comparados aos valores sugeridos como normais por Roussel et al. (1997). Isso pode ter acontecido porque as globulinas estão relacionadas, por sua

vez, com as condições imunológicas do organismo. Concentrações elevadas de globulinas podem ser observadas logo após o desencadeamento de uma infecção (Payne & Payne, 1987). González e Rocha (1998) atribuíram a processos inflamatórios, como mastites, o aumento (23,3% a mais do que vacas secas) nos níveis de globulinas de vacas lactantes; fato que pode justificar a elevação de globulina neste trabalho.

O perfil enzimático hepático foi demonstrado pelos valores séricos de aspartato amino transferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT) (Tabela 4). Para a GGT, os valores permaneceram dentro dos limites normais para bovinos, segundo Gregory (1995), indicando que os animais não apresentavam perfil de doença hepatobiliar.

O valor médio de AST foi de 106,39 UI/L; média superior aos valores de referência constatados por Gregory et al. (1999). Houve diferença significativa, apresentando um efeito quadrático, quando foram inclusas no tratamento a ureia convencional e a ureia protegida. O menor valor encontrado de AST foi do tratamento com 44% de ureia de liberação lenta, sendo de 96,93 UI/L. Esse resultado foi diferente estatisticamente do habitual, quando comparado ao tratamento controle e ao tratamento com 88% de ureia protegida. O maior de AST foi do tratamento com 88% de ureia protegida, sendo de 115,26 UI/L. A inclusão de 88% de ureia de liberação lenta promoveu a maior alteração dessa enzima no fígado. Isso indica que a utilização de 2,1% de ureia na matéria seca pode não levar a quadros de intoxicação, porém, compromete a função hepática das vacas leiteiras. Para Gregory et al. (1999), nas condições brasileiras, os valores da atividade sérica da AST, em bovinos sadios, não deveriam exceder 50U/l, enquanto os valores para a GGT não deveriam ultrapassar 25U/l. Quando os valores da AST fossem maiores do que 50U/l e menores do que 100U/l e os valores da GGT fossem maiores do que 25U/l e menores do que 50U/l, ficaria caracterizada uma alteração da função hepática, indicativo de que o fígado está sendo lesado ou sobrecarregado e, portanto, esses dados poderiam ser utilizados para o reconhecimento precoce de enfermidades no fígado.

Os resultados para a concentração de glicose apresentaram média de 67,97 mg/dL. A inclusão de ureia de liberação lenta, em 44%, em substituição ao farelo de soja na dieta apresentou diferença significativa, com o menor valor glicêmico 56,92 mg/dL, quando comparado ao tratamento controle com 100% de ureia convencional. As variações nas concentrações de glicose sérica de bovinos vão de 35,0 a 55,0; 45,0 a 75,0 e 42,1 a 74,5 mg/dL, segundo Blood e Radostits (1991), Clinical Biochemistry of Domestic Animals (1997) e Manual Merck de Veterinária (1997), respectivamente.

Apesar da diferença significativa entre os tratamentos resultados encontrados no presente experimento situam-se dentro desses campos de variação.

4-CONCLUSÃO

A inclusão de ureia convencional e de ureia protegida, em substituição ao farelo de soja, em dietas de vacas leiteiras, promove alterações no quadro leucocitário desses animais.

O estudo de parâmetros avaliativos presentes no eritrograma de vacas leiteiras, alimentadas com diferentes tipos de ureia, não mostrou alterações que indicassem prejuízos à saúde dos animais.

O estudo de métodos de auxílio diagnóstico para uma avaliação geral do rebanho, como a determinação de alguns parâmetros hematológicos, permite uma oportuna ação sobre a instalação, o manejo, a saúde dos animais e as condições de bem-estar animal.

5-REFERÊNCIAS

ABT, D. A.; IPSEN, J.; HARE, W. C. D.; MARSHAK, R. R.; SAHL, J. Circadian and seasonal variations in the hemogram of mature dairy cattle. **Cornell Veterinarian**, v. 56, p. 479-520, 1966.

AENGWANICH, W.; CHANTIRATIKUL, A.; PAMOK, S. Effect of Seasonal Variations on Hematological Values and Health Monitor of Crossbred Beef Cattle at Slaughterhouse in Northeastern Part of Thailand. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 5, n. 5, p. 644- 648, 2009.

ANTONELLI, A. C. **Administração de doses padrão e alta de ureia extrusada ou granulada em bovinos: uma análise clínica-toxicológica e laboratorial.** 2003. 147p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ANTONELLI, A.C., TORRES, G.A.S., MORI, C.S. Intoxicação por amônia em bovinos que receberam ureia extrusada ou granulada: alterações em alguns componentes bioquímicos do sangue **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 69-76, 2009.

BLOOD, D.C., E O.M. RADOSTITS. 1991. **Clínica Veterinária** (7a. Ed.). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

CAMPOS, R., LACERDA, L.A., TERRA, S.R. et al.,GONZÁLEZ2Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**., São Paulo, v. 45, n. 5, p. 354-361, 2008

CASTANEDA, R. D.; BRANCO, A.F.; CONEGLIAN, S.M. et al Substituição de ureia por cloreto de amõnio em dietas de bovinos:digestibilidade, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminais e sanguíneos, **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.31, p.271-277, 2009.

CARARETO, R. **Fontes de nitrogênio, níveis de forragem e métodos de processamento de milho em rações para tourinho da raça Nelore terminados em confinamento**. 2011. 104p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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. **International feed research unit**. Aberdeen Rowett Research Institute, 1992. 21p.

CLINICAL BIOCHEMISTRY OF DOMESTIC ANIMALS. 1997. In: Kaneko, J.J., J.W. Harvey, and M.L. Bruss (Ed.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** (5th. Ed.). Academic Press, California. p. 890.

CONTRERAS, P.A. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F.H.D. et al. (Eds). **Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.23-30.

COSTA, M.J.R.P.; TONHATI, H.; OLIVEIRA, P.S.P.F. et al. Polimorfismo da hemoglobina, hematócrito e taxa de hemoglobina em vacas Jersey. **Veterinary Zootec**. , v.1, p.23-30, 1985.

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm´s veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Willians & Wilkins. 2000. 1174 p.

FROSLIE, A. Feed-related urea poisoning in ruminants. **Folia Veterinaria Latina**, Milano, v. 7, n. 1, p. 17-37, 1977.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de Hematologia Veterinária.** 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, p.41-45, 2005.

GONZÁLEZ F.H.D., ROCHA J.A. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.26, p.52-64, 1998.

GONZALEZ F.H.D., HAIDA K., ZANELLA R., FIGUR K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. **Arquivo da Faculdade Veterinaria** *UFRGS* v.24, p.11-24. 1996.

GREGORY, L. **Valores padrões de referência de parâmetros bioquímicos séricos utilizados na avaliação das funções hepática e renal de bovinos, da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. Influência de fatores etários, sexuais e da infecção pelo Vírus da Leucose dos Bovinos.** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, 1995. 161p. (Dissertação, Mestrado).

GREGORY, L. et al. Reference values of the enzymatic activities of the aspartate aminotransferase and gamma glutamyltransferase of Jersey breed. The influence of age and sexual factors, and of the infection by the bovine leukosis virus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 6, p. 515-522, 1999.

MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. 1997. (7a. Ed.). Roca, São Paulo.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed.rev. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 381p.

OLIVER, J. W.; SCHULTZE, A. E.; ROHRBACH, B. W.; FRIBOURG, H.; INGLE, T.; WALLER, J. C. Alterations in hemograms and serum biochemical analytes of steers after prolonged consumption of endophyte-infected tall fescue. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 4, p. 1029-1035, 2000.

PAYNE, J.M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. New York : Oxford University, 1987. 179p.

PEREIRA, L. G. P.; GUIMARÃES JUNIOR, R.; TOMICH, T. R. Utilização da ureia na alimentação de ruminantes no semiárido. **Embrapa Pecuária Informática**, Campinas, n. 18, p. 1-13, 2009.

PIRES, A.V.; OLIVEIRA JUNIOR, R.C; FERNANDES, J.J.R. et al. Substituição do farelo de soja por ureia ou amireia na dieta de bovinos de corte confinados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.937-942, 2004.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.C. **Clinical biochemistry of domestic animals.** 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. 928 p.

KEER, G. M. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: Bioquímica clinica e hematologia.** 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. 436 p.

RODRIGUES, A.A. Potencial e limitações de dietas a base de cana-de-açúcar e uréia para recria de novilhas e para vacas em lactação. In: II SIMPÓSIO MINEIRO DE NUTRIÇÃO DE GADO DE LEITE, 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 1999. p.65-75.

ROUSSEL, A.J.; WHITNEY, M.S.; COLE, D.J. Interpreting a bovine serum chemistry profile: part1. **Veterinary Medicine**, v.92, p.553-558, 1997.

SANTOS,N.V.M. **Eficiência da desintoxicação de amônia em bovinos adaptados ou não com ureia dietética e submetidos a diferentes períodos de privação** Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2005.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **User's guide.** Cary: SAS Institute, 2002. 525p.

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes**: fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856 p. 1996.

SILVA, D. J., A. C. QUEIROZ. 2002. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 235p.

THRALL. M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária.** 1 Ed. São Paulo: Roca, 2007.