**Utilização de fontes nitrogenadas com diferentes taxas de
degradabilidade em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas
leiteiras**

**Utilização de fontes nitrogenadas com diferentes taxas de
degradabilidade em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas
leiteiras**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Marcos Veiga dos
Santos

Pirassununga

2010

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2379
FMVZ

Naves, Julianne de Rezende

Utilização de fontes nitrogenadas com diferentes taxas de degradabilidade em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas leiteiras / Julianne de Rezende Naves. -- 2010.

103 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos.

1. Vacas leiteiras. 2. Fontes nitrogenadas. 3. Produção e composição do leite.
4. Consumo e digestibilidade. 5. Parâmetros metabólicos sanguíneos. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Fontes protéicas em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas leiteiras", protocolado sob o nº 1634/2009, utilizando 12 (doze) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 18 de março de 2009.

We certify that the Research "Protein sources in diets based on sugar cane for dairy cows", protocol number 1634/2009, utilizing 12 (twelve) bovines, under the responsibility Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 03/18/09.

São Paulo, 20 de março de 2009

Profa Dra Denise Tabacchi Fantoni
Vice-Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética - FMVZ/USP
SR, 20/3/09

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: NAVES, Julianne de Rezende

Título: Utilização de fontes nitrogenadas com diferentes taxas de degradabilidade em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas leiteiras.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciência

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Ao meu amado pai, **Márcio Antonio Naves**, alicerce da minha família e vida. Simplesmente, um exemplo de força e perseverança.

À minha linda e amada mãe, **Lucília de Rezende Naves**, pela amizade e companheirismo, símbolo da mulher forte e dedicada. Obrigada por nunca conter esforços para proporcionar-me o melhor, além do constante apoio às minhas decisões.

Ao meu amado irmão, **Adriano de Rezende Naves**, pelos caminhos percorridos, pelos ensinamentos, pela arte de perdoar e ceder.

Às famílias, **Naves e Rezende**, por ensinar que a família é o ponto inicial e final, fundamental no crescimento do ser humano.

Ao meu namorado, **Ailton Rosa Júnior**, amigo, confidente e companheiro. Esteve ao meu lado em todas as fases, principalmente, as difíceis. Com sua calma e inteligência auxiliou-me da melhor forma possível.
Você é imprescindível.

À família, **Rosa**, com seu acolhimento e incentivos diários, ensinou-me a amá-los como a minha nova família.

*A vocês, dedico este
trabalho com muito amor
e carinho!*

AGRADECIMENTOS

À Deus por guiar-me nesta e em todas as trajetórias;

Agradeço as oportunidades proporcionadas pela Universidade de São Paulo, a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal pelo apoio incessante ao trabalho, aprimoramento pelo conhecimento profissional, acadêmico e científico;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo, e consequente tranquilidade para dedicação deste trabalho;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão do auxílio à pesquisa que possibilitou a realização deste estudo;

Ao orientador Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, pela orientação, pelo profissionalismo, pelos ensinamentos, pela confiança e pela paciência;

Ao Prof. Dr. Francisco Palma Rennó pelos ensinamentos, disposição e auxílio nas etapas deste processo;

À todos os professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP): Dr. Ricardo Albuquerque, Dr. Paulo Henrique Mazza, Dr. Alexandre Gobesso, Dr. Anibal de Sant'Anna Moretti, Dra. Angélica Simone Cravo Pereira e Dr. Romualdo Shigueo Fukushima pela colaboração e profissionalismo dispensados;

Ao Profs. Drs. Augusto Hauber Gameiro, Ed Hoffmann Madureira, Prof. Dr. Julio Balieiro e Luís Felipe Prada e Silva pela compreensão, humildade, amizade, atenção e ensinamentos ao longo desta etapa;

Aos colegas e amigos de mestrado pelos momentos inesquecíveis e ensinamentos eternos: Dani Beuron, Milton Maturana, Paulinha Duarte, Dani Donatto, Ju Pinheiro, Claudinha, Carol Malek, Carol Tobias, Nara Consolo, Henry, Dani Maria, Anaí Naves, Rafa (bizão), Rinaldo, Marília, Camila, Marina, Yara, Octavio, Estelinha, Tenente Ribeiro, Fernando (Boi), Walter, Samuel (Gaúcho), Felipe Foca, Cris Cortinhas, Lenita, José Esler (Zé), Jefferson e Erika Gandra, Bruno Botaro, Marco Aurélio, Henrique Andreucci, Juliano, Cássia, Fernanda, Maria Fernanda, Francine, Esther, Larissa, Simone, “Perna”, Ana Paula, Bia (Beatriz), Lígia, Iaçanã, “Donzela”, Andreas, Leonardo D’Angelo, João (Pé), Vinícius, Pascoal, Rafael Calabreza, Chris Ferreira, Michele, Gustavo (Chorão), Paulo Gil, Laura;

Aos meus amigos, “irmãos”, Elmeson e Ju Barreiro, por estarem em todos os momentos ao meu lado, fornecendo-me conselhos e forças. Fazendo com que esta etapa se tornasse mais branda.

Obrigada pelo incessante carinho, esforço e dedicação!

Aos meus amados amigos de república e eternos companheiros: Ju Diniz, Babi Marques, Renan e Jonnhy. Durante este longo convívio e aprendizados diários foram chaves para o amadurecimento e crescimento, para a cessão e o perdão. Obrigada pelo carinho, respeito, atenção, ajuda e, principalmente, alegria!

À todos os estudantes estagiários e de iniciação científica que, de alguma forma, ajudaram na elaboração da minha dissertação, além da participação direta durante a fase experimental, em especial a Laila (pelo esforço, amizade e determinação constantes), André (pia), André (UFV), Rafael (VRA), Tiago (Tiagão), Jordânio (jiló), pelos momentos sérios e descontraídos durante a execução deste trabalho;

Ao Sr. Gilmar Edson Botteon, funcionário dedicado, atencioso e amigo. Muito obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos, inclusive nos difíceis.

Aos funcionários da Secretaria do VNP, Sr. José Francisco M. Ferreira e Sra. Alessandra de Cássia T. da Silva, Sr. João Paulo de Oliveira Barros pelo apoio e atenção dispensadas;

Ao amigo, técnico de vôlei, Professor Luiz Margutti Netto pelos momentos descontraídos, sinceros e dedicados ao incentivo do esporte.

Ao Sr. Ari Luiz de Castro, Sra. Simi Luiza Durante Aflalo Robassini, Sr. Gilson Luiz Alves de Godoy e Sr. Everson de Jesus Lázaro, funcionários do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pela amizade, atenção, alegria e fundamental colaboração na realização das análises laboratoriais;

Sr. José Franchini Garcia Moreno e Sra. Lucinéia Mestieri, funcionários do Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal FMVZ-USP, pelo auxílio na realização das análises laboratoriais;

Ao Sr. Paulo Cesar Fabrício Rasplantini (PC) e a Sra. Leonila Ester Reinert Rasplantini, técnicos do Centro de Pesquisas Toxicológicas-CEPTOX -Departamento de Patologia da FMVZ-USP, pela amizade, apoio e incentivo;

Aos queridos funcionários e amigos do laboratório clínico do Hovet Paulão e Cecília pelo convívio e alegria;

Aos funcionários competentes do Setor de Bovinocultura de Leite da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga – PCAPS, Srs. Carlos Alberto Schimmitt, Antônio Carlos

Baladore, José Antônio da Costa da Silva, João Paulo Pagotti, José Antônio da Silva, Luis Tadeu de Oliveira, Valmir Donizetti Botteon e José Antônio Coelho pelo apoio, atenção, alegria e amizade dispensadas;

Ao Dr. Fernando Schalch, Médico Veterinário da PCAPS, pela atenção durante o experimento;

Aos funcionários da fábrica de ração - PCAPS, Srs. Fernando, Israel Andrietta, Cláudio de Jesus Aparecido São Romão e José Luiz Aparecido Landgraf, agradeço a atenção, amizade e aos esforços dispensados;

À funcionária Elza Maria Rosa B. Faquim pelo grande apoio dispensado à conclusão deste trabalho;

Às queridas moças da faxina, pelo bom humor diário, amizade e carinho;

Aos porteiros pela alegria, convivência, amizade e respeito;

De coração, agradeço eternamente!

Vencer é aproveitar as lições até o ponto de não mais voltar a cometer erros; é encontrar nos erros cometidos os pontos que os fortalecem; é dominar com destreza a arte de saber perder; é vislumbrar as vitórias com a mesma humildade de quando se fala com Deus.

Silvia Schmidt

RESUMO

NAVES, J. R. **Utilização de fontes nitrogenadas com diferentes taxas de degradabilidade em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas leiteiras.** [Feeding nitrogen sources with different degradability rates in sugar cane based diets for dairy cows]. 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da degradabilidade de fontes nitrogenadas em rações de vacas leiteiras, utilizando volumoso à base de cana-de-açúcar, sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, fermentação ruminal, produção e composição do leite, composição da fração proteica do leite, e parâmetros sanguíneos. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, agrupadas em três quadrados latinos balanceados 4x4, com período experimental de 21 dias, sendo nos 7 últimos dias as coletas. Os animais foram alimentados com rações isoproteicas (15,7% de PB): a) Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, farelo de soja e ureia; b) Alta degradabilidade – 71,33% PDR, 29,29% PNDR, farelo de soja e alta concentração de ureia (1,71% da MS); c) Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR, soja crua em grão como fonte proteica e d) Baixa degradabilidade – 62,42% PDR, 37,57% PNDR, farelo de glúten de milho como fonte proteica. As amostras utilizadas para análise de composição do leite foram coletadas nos quatro últimos dias consecutivos de cada período experimental. As amostras de líquido ruminal foram coletadas por sonda esofágica três horas após a alimentação matinal. A digestibilidade foi determinada por meio de indicador interno FDAi. Houve aumento de consumo de extrato etéreo nas vacas alimentadas com a ração contendo grão de soja, fonte nitrogenada com média degradabilidade, em relação aos demais tratamentos. Houve redução na digestibilidade aparente total das proteínas nas rações de média degradabilidade. Não houve efeito das rações utilizadas nos valores de pH ruminal, três horas após a alimentação. Neste mesmo tempo, a concentração de nitrogênio amoniacal ruminal foi menor para as vacas que receberam grão de soja nas rações. Entre as rações nitrogenadas controle e as que possuem diferentes degradabilidades, a ração com grão de soja resultou em redução da produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e produção de gordura. Houve aumento no teor e produção de proteína para a ração controle, dentre as demais. Os teores de proteína bruta no leite, nitrogênio não caseinoso e proteína verdadeira foram maiores para vacas alimentadas com ração controle. As concentrações de colesterol total e colesterol-HDL foram maiores para as vacas alimentadas com rações contendo grão de soja.

As concentrações de ureia e nitrogênio ureico no soro foram menores nas dietas com grão de soja. Estas concentrações quando no leite foram semelhantes entre as rações utilizadas. Os parâmetros de síntese proteica não foram alterados com as rações experimentais. A utilização de fontes nitrogenadas com diferentes degradabilidades nas rações de vacas leiteiras, com volumoso cana-de-açúcar, não altera o consumo e o desempenho produtivo, mas altera o teor de proteína bruta e verdadeira do leite. O uso do grão de soja como fonte proteica reduz a digestibilidade aparente total da proteína.

Palavras-chave: Vacas leiteiras. Fontes nitrogenadas. Produção e composição do leite. Consumo e Digestibilidade. Parâmetros metabólicos sanguíneos.

ABSTRACT

NAVES, J. R. **Feeding nitrogen sources with different degradability rates in sugar cane based diets for dairy cows.** [Utilização de fontes nitrogenadas com diferentes taxas de degradabilidade em dietas à base de cana-de-açúcar para vacas leiteiras]. 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

This study was carried out to evaluate the effect of degradability of dietary protein sources for dairy cows, using sugar cane based diets on intake and nutrients digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, milk protein fraction composition, and blood parameters. Twelve Holstein cows were allocated in three balanced latin square 4x4, with experimental period of 21 days and 7 last days for data collection. Animals were fed the following rations isoproteic (15,7% CP): a) control - 66,25% RPD, 33,75 % RUP, soybean meal and urea; b) high degradability - 71,33% RPD, 29,29% RUP, soybean meal and high concentration of urea (1,71% of DM); c) medium degradability - 69,42% RPD, 31,21% RUP, raw soybeans and, d) low degradability – 62,42% RPD, 37,57% RUP, corn gluten meal as the protein source. Milk samples for composition analysis were collected during the last four consecutives days in each period. Ruminal fluid samples were collected using an esophageal probe three hours after the morning feeding. Digestibility was determined using ADFi as an internal indicator. There was an increase in ether extract intake in cows fed raw soybean ration, compared with other treatments. It was observed a reduction in apparent digestibility of CP in the diets of medium degradability. It was not observed effects of treatments in ruminal pH, however, concentration of ruminal ammonia was lower for cows fed whole soybeans. Cows fed raw soybean produced less 3,5% fat milk and lower fat yield. Milk crude protein and protein yield was higher for cows fed control diet. Milk crude protein, non-casein nitrogen and true protein were higher for cows fed control diet. Concentrations of total cholesterol and cholesterol-HDL were higher for cows that received soybean, compared with the others treatments. Concentrations of urea and serum urea nitrogen were lower in cows fed soybean ration. The concentrations of urea and milk urea nitrogen were similar between the treatments. Feeding nitrogen sources with different degradability rates in sugar cane based diets for dairy cows not change intake and production performance but change milk crude protein and true protein. Feeding soybean as protein source decreases protein total apparent digestibility.

Keyword: Dairy cows. Nitrogen Sources. Milk yield and composition. Intake and digestibility.
Blood parameters.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes do concentrado, expressa na matéria seca (%MS) 60

Tabela 2 – Composição percentual dos ingredientes nas rações 60

Tabela 3 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDN corrigida para nitrogênio, (FDNn), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), lignina (LIG), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), CNF corrigido para cinzas e proteína (CNFcp), energia líquida de lactação (ELL), nutrientes digestíveis totais (NDT) e energia bruta (EB), obtidos para os ingredientes 61

Tabela 4 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDN corrigida para nitrogênio, (FDNn), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), lignina (LIG), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), CNF corrigido para cinzas e proteína (CNFcp), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia líquida de lactação (ELL) e energia bruta (EB), dos concentrados experimentais e cana-de-açúcar 62

Tabela 5 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDN corrigida para nitrogênio, (FDNn), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), lignina (LIG), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), CNF corrigido para cinzas e proteína (CNFcp), energia líquida de lactação (ELL), nutrientes digestíveis totais (NDT) e energia bruta (EB) das rações experimentais 63

Tabela 6 - Médias e erro padrão da média (EPM) do consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca por peso vivo (CMS/%PV), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro corrigida (CFDNcp), ou não para cinzas e proteína (CFDN), fibra em detergente neutro por peso vivo (CFDN – PV), carboidratos não-fibrosos corrigido (CCNFcp) ou não para cinzas e proteína (CCNF), carboidratos totais (CCT), nutrientes digestíveis totais (CNDT) e energia líquida de lactação (CELL) em função das rações experimentais 73

Tabela 7 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE), carboidratos totais (CDCT), fibra em detergente neutro, (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF) e nutrientes digestíveis totais observados (NDTobs), em função das rações experimentais 77

Tabela 8 – Médias e erro padrão da média (EPM) do pH, das concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), proporção, concentração molar e total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, 3 horas após a alimentação, segundo as rações experimentais.. 79

Tabela 9 - Médias e erro padrão da média (EPM) da produção diária de leite sem (PL) e com correção para 3,5% de gordura (PLC), eficiência produtiva (EP), teores e produção diária no leite de gordura (GL), teores e produção da proteína bruta (PB), teores e produção de lactose (LA), extrato seco total (EST), ureia no leite (URL), nitrogênio ureico no leite (NUL), contagem de células somáticas (CCS), peso corporal (PC), mudança de peso corporal (MPC), escore de condição corporal (ECC) e mudança de escore de condição corporal (MECC), em função das rações experimentais..... 80

Tabela 10 - Médias e Erro padrão da média (EPM) dos teores no leite de proteína bruta (PB), nitrogênio não proteico (NNP), nitrogênio não caseinoso (NNC), caseína, proteína verdadeira (PV), relação caseína: proteína verdadeira em função das rações experimentais.. 83

Tabela 11 - Médias das concentrações sanguíneas de glicose (GLI), albumina (ALB), proteínas totais (PTN), ureia (URE), ureico no soro (NUS), colesterol total (COT), colesterol HDL (C-HDL), e ácido graxo não-esterificado em função das rações experimentais 84

Tabela 12 – Médias e Erro padrão da média (EPM) da concentração de creatinina urinária (CRE), da excreção total de urina (ETU), das concentrações de alantoína na urina (AL-urina) e no leite (AL-leite), do ácido úrico na urina (AU-urina), das purinas totais (PT), da alantoína em porcentagem das purinas totais (AL%), das purinas microbianas absorvidas (Pabs), do nitrogênio microbiano (Nmic), da proteína bruta microbiana (PBmic) e da eficiência de síntese de proteína microbiana (EF), em função das rações experimentais..... 86

LISTA DE FIGURA

Figura 1 - Diagrama das principais reações da fermentação de carboidratos, catabolismo proteico e biossíntese celular pelos microrganismos do rúmen.....	32
--	----

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

AGV	Ácidos graxos voláteis
CMS	Consumo de matéria seca
CHO	Carboidratos
EE	Extrato etéreo
EL _L	Energia líquida de lactação
EMic	Eficiência de síntese de proteína microbiana
FDA	Fibra em detergente ácido
FDA _i	Fibra indigestível em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FS	Farelo de soja
FM	Farelo de milho
FGM	Farelo de glúten de milho
GS	Grão de soja
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
N	Nitrogênio
NH ₄ ⁺	Amônio
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
PDR	Proteína degradável no rúmen
PM	Proteína metabolizável
Pmic	Proteína microbiana
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
PV	Proteína verdadeira

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	23
3 REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1 Proteínas em Rações de Ruminantes	24
3.2.1 Microbiota Ruminal e Degradação Proteica	27
3.2.2 Fatores influenciadores da disponibilidade de aminoácidos ao sistema metabólico do ruminante	28
3.2.3 Metabolismo proteico ruminal	30
3.2.3.1 Determinação de síntese de proteína microbiana	33
3.2.4 Ciclo da ureia e reciclagem de nitrogênio	34
3.3 Síntese de proteína microbiana e fermentação ruminal	35
3.4 Digestão e absorção intestinal de proteínas	38
3.5 Consumo de matéria seca	40
3.6 Digestibilidade aparente total dos nutrientes	42
3.7 Produção e composição do leite	45
3.8 Parâmetros metabólicos sanguíneos	49
3.9 Fontes proteicas	51
3.9.1 Farelos de soja	51
3.9.2 Grão de soja	53
3.9.3 Farelo de Glúten de Milho	54
3.10 Cana-de-açúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L.) em dietas de vacas leiteiras	56
4 MATERIAIS E MÉTODOS	59
4.1 Local, Instalações e Animais	59
4.2 Rações Experimentais e Análise dos Alimentos	59
4.3 Digestibilidade Aparente Total	64
4.4 Fermentação Ruminal	65
4.5 Síntese de Proteína Microbiana	67
4.6 Produção e Composição do Leite	68
4.7 Avaliação do Escore de Condição Corporal e Peso Corporal	70
4.8 Parâmetros Sanguíneos	70
4.9 Análises Estatísticas	71
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1 Consumo	73
5.2 Digestibilidade Aparente Total	76
5.3 Fermentação Ruminal	78
5.4 Produção e Composição do Leite	79
5.5 Parâmetros Metabólicos Sanguíneos	83
5.6 Síntese de Proteína Microbiana	85
6 CONCLUSÕES	87
REFERÊNCIAS	88

1 INTRODUÇÃO

Por muitos anos, a proteína bruta foi utilizada na formulação de dietas para vacas leiteiras, pois, pouco se sabia sobre a resposta variável que a qualidade da proteína poderia causar. Ao longo do tempo, pesquisadores postularam que a alta qualidade da proteína microbiana sintetizada no rúmen poderia complementar as deficiências na qualidade da proteína dietética, que escapa da fermentação ruminal (CHEEKE, 2005).

Na década de 1980, nutricionistas cientes de que a proteína microbiana não supriria o perfil de aminoácidos para atender as exigências de vacas leiteiras de alta produção passaram a utilizar conceitos como proteína não degradável e degradável no rúmen (CHEEKE, 2005).

Além disso, dietas formuladas com adequado perfil de aminoácidos contribuem para a redução da quantidade de proteína bruta da dieta, o que resulta em impacto econômico positivo (BACH et al., 2000).

Os aminoácidos disponíveis aos ruminantes são oriundos da oferta conjunta da proteína dietética que escapa da degradação do rúmen e da proteína microbiana de origem ruminal. Em relação ao primeiro, muitos fatores podem afetar a proporção de proteínas e aminoácidos que escapam à degradação ruminal, como a solubilidade e a taxa de passagem para o intestino delgado. Em relação ao segundo, sua regulação está vinculada a quantidade de matéria orgânica fornecida pelas forragens fermentadas no rúmen com adequada concentração de amônia e minerais não limitantes (KAMALAK et al., 2005).

No entanto, animais com alta capacidade produtiva necessitam maximizar a eficiência da síntese de proteína microbiana para que possam expressar seu potencial genético (VALADARES FILHO; VALADARES, 2001). A maximização da produção microbiana reduz na suplementação com proteína dietética não degradável no rúmen, o que é desejável já que esta proteína apresenta adequado perfil de aminoácidos, independentemente da dieta fornecida (DIAS et al., 2008)

A eficiência da microbiota ruminal na síntese proteica depende da sincronia entre a adequada taxa de energia metabolizável e nitrogênio degradável do rúmen, o que permite aos microorganismos fixarem o nitrogênio em proteína microbiana (PEREIRA et al., 2005). A cana-de-açúcar que possui alto rendimento por hectare e produtividade, e as fontes

nitrogenadas não proteicas, como a ureia, são amplamente usadas como alimento para vacas leiteiras, devido ao seu baixo custo.

Segundo Valadares Filho e Pina (2002), a cana-de-açúcar pode ocasionar redução do consumo de matéria seca. Isto pode ocorrer, principalmente, a baixa digestibilidade da fibra (teor médio da FDN de 47% da MS). Uma alternativa para este tipo de problema é a redução de seu uso na dieta e aumento da participação do concentrado. Com isto, origina maior aporte de matéria orgânica digestível, aumento da concentração de energia, redução da concentração da fibra e, conseqüentemente, maior consumo de MS para atender às exigências energéticas do animal.

Entretanto, há um crescente interesse em determinar a real necessidade de nitrogênio (PDR: PNDR) para obtenção máxima da degradação da fibra e do crescimento microbiano. Como exemplificado por Hristov et al. (2004), o excesso de N no rúmen é o maior contribuinte por perdas de N pelas vias urinárias, metabólicas, microbiana e de manutenção. Além disso, interfere nas perdas de nitrogênio ureico em até 72% nas vacas leiteiras (TAMMINGA, 1992).

Segundo o National Research Council - NRC (2001), o objetivo da nutrição proteica dos ruminantes é disponibilizar ao animal adequada quantidade de proteína degradada no rúmen (PDR), promovendo a eficiência dos processos digestivos e, conseqüentemente, otimizar o desempenho animal com a mínima quantidade de proteína bruta dietética.

Este comitê também relata que a otimização da eficiência do uso da proteína bruta da dieta requer a seleção de alimentos proteicos e suplementos de nitrogênio não proteicos (NNP) para disponibilizar quantidades adequadas de PDR, sem exceder as exigências de nitrogênio, necessárias para a máxima síntese de proteína microbiana. Além disso, em determinadas situações deve-se utilizar adequadas fontes de proteína não degradável no rúmen (PNDR) para o fornecimento de aminoácidos (AAs) absorvíveis no intestino delgado em complementação a PDR.

Contudo, a importância de estudos sobre degradabilidade da proteína bruta com o uso de diferentes fontes nitrogenadas em dietas à base de cana-de-açúcar pode causar alterações na produção e composição do leite e parâmetros ruminais. Com isso, podem-se identificar quais alternativas mais econômicas e eficientes.

Como hipótese deste estudo foi proposto que a alteração da degradabilidade da proteína bruta ao utilizar diferentes fontes nitrogenadas, com alteração da proteína

metabolizável, em dietas para vacas leiteiras à base de cana-de-açúcar alteraria a produção e composição do leite, assim como os parâmetros ruminais, de consumo, digestibilidade, e sanguíneos.

2 OBJETIVOS

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes degradabilidades nitrogenadas em rações de vacas em lactação sobre o consumo, digestibilidade da matéria seca e nutrientes; fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, produção e a composição do leite; composição das frações proteicas do leite; concentrações de metabólitos sanguíneos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Proteínas em Rações de Ruminantes

Proteínas são macromoléculas complexas, nitrogenadas, fundamentais para o crescimento, desenvolvimento e manutenção das funções celulares de todos os organismos vivos. Presentes nas células, com funções estruturais, enzimáticas, hormonais, de recepção de estímulos hormonais e armazenamento de informações genéticas. (LEHNINGER; NELSON, 2005).

As proteínas são compostas por unidades básicas, chamadas de aminoácidos (AA), que são unidas por ligações peptídicas. Podem ser simples ou complexas, sendo que nestas últimas podem conter além dos AA, outros compostos como grupo heme (hemoproteínas), lipídeos (lipoproteínas) e açúcares (glicoproteínas) (LEHNINGER; NELSON, 2005). Apesar de existir na natureza aproximadamente 300 aminoácidos (SANTOS, 2006), as proteínas são constituídas por 21 AAs principais, dos quais dez são considerados “essenciais” ou “indispensáveis” devendo, pois, constar na dieta (NRC, 2001).

A degradabilidade proteica é caracterizada pela conversão da proteína dietética em amônia. Ela envolve basicamente dois processos: a digestão (degradação da proteína em aminoácidos) caracterizada por etapas de solubilização, hidrólise extracelular, transporte intracelular; e a fermentação (degradação dos aminoácidos em ácidos graxos voláteis) onde se inserem fases como a desaminação e a formação de produtos finais (amônia, AGV, dióxido de carbono e metano). Nestes processos, grande parte dos microrganismos ruminais participam efetivamente deste complexo sistema (BRODERICK; WALLACE; ORSKOV, 1991; RUSSELL; ONODERA; HINO, 1991).

Os sistemas de suplementação visam atender o consumo adequado de nutrientes ao animal. Do contrário, se os animais consumirem abaixo do desejado suas necessidades não são atendidas e, se acima, aumentam-se os custos com a suplementação, além de diminuir o consumo e digestibilidade do volumoso (FERREIRA et al., 2009).

Boa parte dos custos de uma dieta é proveniente da suplementação proteica. Quando há superestimativa pode ocorrer excesso de nitrogênio e consequente poluição ambiental. Para

uma eficiente formulação proteica deve-se uni-la a fatores como o estágio de lactação, o potencial genético do animal e a concentração de carboidratos (VADARES FILHO; CABRAL, 2002).

O fornecimento ideal da ração ocorre quando há melhoria na persistência da lactação, principalmente em casos de vacas que se encontram no terço médio de lactação, pois, já ultrapassaram o pico de produção de leite e alcançaram o pico de ingestão de MS não ocorrendo mais perda de peso corporal (NEIVA, 1998).

Em se tratando de altas taxas de ingestão de MS, vacas lactantes podem ingerir dietas com menor teor de PB e manterem os devidos requerimentos para proteína metabolizável, podendo-se reduzir ou eliminar o fornecimento de proteína não degradável no rúmen (PNDR) na dieta. Em contrapartida, há correlação linear positiva entre o aumento de ingestão de MS e a taxa de passagem, o que pode resultar na necessidade de suprimento de PNDR em razão da redução do tempo disponível para degradação no rúmen (ROBINSON; McQUEEN; BURGESS, 1991).

Nas formulações dietéticas para vacas lactantes, as concentrações de PB são as primeiras a sofrerem redução, principalmente, devido ao seu alto custo. No entanto, deve-se ter cautela quanto a esta prática, pois, segundo Imaizumi et al. (2010), para vacas produzindo em torno de 29 kg/dia, o aumento no teor de PB de 17,5%, acima das recomendações do NRC (2001) para PDR e PM, resulta em maiores produtividades de leite, leite corrigido para gordura e de proteína do leite.

Portanto, antes de se alterar os teores de PB na dieta, é importante determinar as concentrações ótimas de PDR e PNDR em relação ao consumo de proteína total, pois quantidades adequadas de PDR são necessárias para otimizar a eficiência de síntese microbiana e obter produtividade animal adequada, com quantidade mínima de proteína dietética (NRC, 2001).

No NRC (2001), as exigências proteicas são expressas na forma de PM, que é definida como sendo a proteína verdadeira digerida pós-rúmen e os aminoácidos absorvidos pelo intestino. Assim, a PM é oriunda da digestão intestinal da proteína microbiana e da proteína de origem alimentar não degradável no rúmen. A necessidade de ingestão de PB é estimada como sendo a quantidade de PDR, necessária ao crescimento microbiano, mais a PNDR necessária para complementar a exigência de proteína metabolizável para manutenção e ganho de peso que não foi atingido pela proteína de origem microbiana. Desde então, tem sido utilizado e possui

ampla aceitação o uso de fontes ricas em PNDR na alimentação de vacas, principalmente após a publicação do modelo de proteína absorvível (Absorbed Protein Model) (IMAIZUMI et al., 2006).

Segundo Schwabs e Ordway (2004), deve-se estar atento à importância do perfil de aminoácidos. Revisões científicas, sobre a formulação de rações para a proporção ideal entre os dois aminoácidos mais limitantes, lisina e metionina, observaram que a produção de leite aumenta em até 2,5 kg/dia no início da lactação a partir de recomendações com relação dos teores de lisina e metionina digestíveis serem de 3,1:1 da proteína metabolizável. Isto corresponde, segundo o sistema do NRC (2001), a 7,2 e 2,4 %, respectivamente, na PM.

Atualmente, várias fontes proteicas estão disponíveis no mercado, cujo maior destaque é a soja, comercializada, principalmente, na forma de farelo. Entretanto, devido à sua forte dependência de preço no mercado internacional, fontes alternativas vêm sendo estudadas para substituir o farelo de soja. Uma alternativa muito utilizada segundo Sampaio, Oliveira e Tosi (1995), é a substituição do farelo de soja pelo grão, que se difundiram rapidamente, oferecendo vantagem econômica em relação aos suplementos formulados com o farelo (ALBRO; WEBER; DELCURTO, 1993), uma vez que possui menor preço de mercado.

Na utilização de subprodutos, como o farelo de glúten de milho, devem-se levar em consideração as mudanças quanto à aceitabilidade do animal, que de acordo com Van Soest (1994), é fundamental para a nutrição, pois, determina a concentração de nutrientes ingeridos e, conseqüentemente, a resposta do animal.

Assim, fontes com diferentes degradabilidades nitrogenadas podem ser alternativas viáveis e interessantes visando melhor aproveitamento dos nutrientes pelos ruminantes em busca do equilíbrio entre a utilização do nitrogênio não proteico, da proteína degradável e não degradável do rúmen.

Para tal fim, pode-se considerar separadamente a demanda de fontes nitrogenadas dos microrganismos do rúmen e a do animal, além do conhecimento da degradação ruminal da proteína desempenhando papel fundamental nesse contexto. Essa degradabilidade determina não só a contribuição para atender às necessidades dos microrganismos, como também, a quantidade potencial de proteína que escapa da fermentação ruminal capaz de fornecer aminoácidos disponíveis para digestão a partir do abomaso.

3.2 Digestão e Absorção de Proteínas

3.2.1 Microbiota Ruminal e Degradação Proteica

O estudo da ecologia e do metabolismo ruminal torna a interação entre os animais, os microrganismos, a alimentação e os produtos finais da digestão, tópicos essenciais. Além disso, visa identificar estratégias dietéticas a fim de melhorar a eficiência do uso dos nutrientes tanto para o animal quanto para os microrganismos (ØRSKOV, 1992; MACKIE; WHITE, 1990).

Para esses autores, a seleção microbiana ocorre a partir do adequado pH e substrato o que torna estes microrganismos bem adaptados ao ambiente ruminal. Com isso, adquirem alta taxa de crescimento celular, sendo quase 40% das espécies com ampla atividade proteolítica. Grande parte destes microrganismos ruminais possui alta variedade de proteases. Particularmente, as bactérias, em sua maioria, atuam neste processo juntamente com as secreções gástricas e pancreáticas. No entanto, a composição do alimento e o tempo em que estes são mantidos no rúmen são significativos para atuação dessa atividade proteolítica a fim de romper porção substancial da maioria das proteínas da dieta (BRODERICK; WALLACE; ØRSKOV, 1991).

Desta forma, a disponibilidade de proteína (%MS e fonte) pode ter efeito sobre a fermentação ruminal e a síntese microbiana. Russell et al. (1992) distinguem microrganismos que atuam na fermentação e hidrólise de carboidratos estruturais e não estruturais. O primeiro grupo pertencente a bactérias que exigem apenas amônia como fonte de nitrogênio para síntese microbiana. Já o segundo grupo, responsável pela quebra dos carboidratos não estruturais beneficiam-se, além da amônia, dos aminoácidos pré-formados. Algumas espécies de bactérias ruminais, tais como, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Bacteroides amylophilus*, *Methanobacterium ruminatum* e *Eubacterium ruminatum*, dependem de amônia para seu crescimento, mesmo quando há presença de proteína verdadeira (NOLAN, 1993).

Além da microbiota bacteriana, há também um grupo, de menor número, quando comparados aos primeiros, os protozoários. Podem ser classificados em dois grandes grupos:

os ciliados, ou *Holotrichia*, compreendendo os gêneros *Isotrichia* e *Dasytrichia*, e os entodiniomorfos (*Entodinia*). Podem diminuir seu número com a diminuição do pH em razão da ingestão de dietas com grande quantidade de grãos. Os protozoários, além de atuarem como predadores da população bacteriana utilizam os aminoácidos pertencentes às bactérias para a síntese de suas próprias proteínas. Com isso, eles acabam por competir por substratos, o que resulta na alteração do fluxo de nitrogênio no ruminante. Por consequência, haverá redução na taxa de degradação proteica e grande parte da proteína dietética torna-se livre para sofrer digestão no intestino. Portanto, estes microrganismos sintetizam amônia, mas não a utilizam como fonte de N para síntese microbiana (COALHO et al., 2003)

Inseridos nestes processos, a disponibilidade de energia e a velocidade de liberação do N amoniacal no rúmen são fatores determinantes na transformação, por exemplo, da ureia em proteína microbiana. Com isso, tentar fixar doses ótimas ou máximas deste nitrogênio não proteico por animal, como tradicionalmente fazia-se, deixou de ter sentido com o desenvolvimento dos sistemas proteicos atuais que permitem balancear a dieta a partir da proteína degradável no rúmen, sendo sua adequação determinante para ajustar a dose ótima de ureia (SANTOS, 2006).

3.2.2 Fatores influenciadores da disponibilidade de aminoácidos ao sistema metabólico do ruminante

Segundo Cunningham (1993), as proteínas são componentes essenciais das dietas. Como se sabe, os ruminantes podem adquiri-las através da absorção intestinal dos aminoácidos provenientes da proteína microbiana do rúmen, a partir da proteína verdadeira, e da proteína dietética não degradada no rúmen.

A forma com que os alimentos são armazenados pode influenciar negativamente a degradabilidade das proteínas. A ensilagem de forragens e grãos de cereais aumenta a degradabilidade da proteína bruta, devido à proteólise microbiana destes processos (NRC, 2001). Assim, a alta quantidade de proteína verdadeira do alimento é convertida em nitrogênio não proteico. Segundo Santos (2006), os teores de NNP, em geral, variam de 10% a 15% no material fresco, de 15% a 25% no material fenado e de 30% a 65% no material ensilado.

Além disso, a compactação precária durante o processo de ensilagem pode resultar em supraaquecimento e parte considerável da proteína bruta pode ser ligada à FDA, tornando-se indisponível (NRC, 2001). Já o processamento de grãos ou de seus subprodutos com o uso de altas temperaturas (tostagem, peletização, extrusão, floculação, etc.), pode diminuir a degradabilidade da proteína bruta pela formação de complexos com carboidratos (reação de *Maillard*), além de aumentar a presença de pontes de dissulfeto (SANTOS, 2005).

Na nutrição proteica de ruminantes, é fundamental a estimativa correta da síntese de proteína microbiana ruminal e de sua contribuição em aminoácidos digestíveis para o animal. Esquemas de alimentação que alteram a produção de proteína microbiana afetam a quantidade e a qualidade da proteína que chega ao intestino delgado (MOSCARDINI; WRIGHT; LUIMES, 1998).

Nolan (1993) verificou que as fontes de compostos nitrogenados no rúmen, a velocidade com que os carboidratos são degradados, a frequência com que os animais se alimentam e a presença adequada do enxofre na dieta são fatores que podem afetar o crescimento microbiano. Entre estes, considera-se os dois primeiros como os principais (CLARK; KLUSMEYER; CAMERON, 1992). Para eficiência deste desenvolvimento microbiano, Santos (2005) ressalta a importância da composição química e física da PB (teor de NNP x proteína verdadeira), a estrutura tridimensional da molécula proteica, a atividade proteolítica microbiana, o acesso microbiano a proteína, o pH ruminal, o processamento do alimento e a temperatura ambiente .

Na ingestão de alimentos, tanto os fatores físicos como os fisiológicos são reguladores e alteram-se com o aumento ou diminuição da digestibilidade da MS da dieta. O consumo é praticamente determinado pelos fatores físicos em dietas cuja digestibilidade da MS seja menor que 66%, e pelos fatores fisiológicos, quando esta for maior que 66% (NRC, 1989).

A quantidade de MS e orgânica digerida no rúmen e a eficiência na utilização da energia pelos microrganismos influenciam diretamente a síntese de proteína microbiana. Por exemplo, caso ocorra redução da concentração de amônia no rúmen poderá ocorrer inibição da fermentação ruminal, sendo todos estes fatores limitantes para o crescimento microbiano (HOOVER; STOKES, 1991)

Segundo Sniffen e Robinson (1987), maiores proporções de açúcares e amido nas dietas ocasionam aumentos nas taxas de crescimento dos microrganismos fermentadores de carboidratos não estruturais e, caso o pH ruminal esteja mantido dentro de limites fisiológicos,

a produção microbiana será maximizada. Ao contrário, se houver diminuição do pH, com o acúmulo de ácido láctico, por exemplo, haverá alteração na microbiota ruminal e conseqüente redução na eficiência microbiana e na ingestão de MS pelo animal.

Além disso, fatores como aumento excessivo de crescimento e velocidade de passagem dos microrganismos ao intestino delgado diminuem a reciclagem de energia e N no rúmen devido à redução na lise das células. Com isso, as exigências de manutenção diminuem com a maior disponibilidade dos nutrientes para o crescimento microbiano, o que afeta diretamente a eficiência de síntese microbiana no rúmen. Portanto, é imprescindível o conhecimento da eficiência na síntese de proteína microbiana (CLARK; KLUSMEYER; CAMERON, 1992).

3.2.3 Metabolismo proteico ruminal

A PB contida nos alimentos de ruminantes é composta por duas frações: a degradável no rúmen (PDR) e outra não degradável no rúmen (PNDR). A PDR é composta de NNP e proteína verdadeira (BRODERICK; WALLACE; ORSKOV, 1991).

O NNP é constituído por compostos de baixo peso molecular, presente em DNA, RNA, NH_3 , NH_4^+ , nitratos, amidas, aminas e pequenos peptídeos e aminoácidos livres (VALADARES FILHO, 2002 e BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005). No entanto, Leng e Nolan (1984) indicaram que aproximadamente metade do nitrogênio microbiano é derivada predominantemente de peptídeos e aminoácidos.

Inicialmente, a degradação proteica no rúmen ocorre com a adsorção pelas bactérias. Na figura 1, tanto a proteína verdadeira (1) como o NNP (2) da proteína degradável no rúmen são absorvíveis pelas bactérias e degradação pelas proteases. As oligopeptidases degradam os oligopeptídeos em pequenos peptídeos e AA livres (3). Estes compostos são transportados para o interior das células bacterianas onde sofrem os seguintes processos: a) degradação dos pequenos peptídeos em AA livres; b) incorporação dos AA livres na proteína microbiana; c) desaminação dos AA livres em amônia e esqueletos carbônicos (4); d) utilização da amônia para a síntese de AA (5); e) difusão da amônia não utilizada para fora da célula (SANTOS, 2006).

Além da degradação que ocorre com a proteína verdadeira no rúmen para a síntese de proteína microbiana (PMic), estas também podem sofrer degradação pelos microrganismos ruminais, produzindo ácidos graxos voláteis (AGV) de cadeia ramificada. Segundo Tamminga (1979), alguns microrganismos podem clivar aminoácidos por não possuírem transportadores específicos para sua eliminação. Poucas espécies utilizam como fonte primária de energia os aminoácidos (RUSSELL; ONODERA; HINO, 1991).

A energia é essencial no processo de incorporação de aminoácidos na proteína do microrganismo (Figura 1). Portanto, deve ocorrer sincronização das taxas de degradação de proteína e carboidratos no rúmen através da fermentação (RUSSELL et al., 1992) para fornecer energia simultaneamente à síntese de proteína microbiana (8).

Há dois processos enzimáticos que trabalham na captação de nitrogênio do meio na forma de amônia: um não exige energia, o Glutamato sintetase; o outro, Glutamamina sintetase, necessita de ATP e possui ampla atuação em baixas concentrações de amônia no meio ruminal (ERFLE; SAUER; MAHADEVAN, 1977).

Os protozoários diferem das bactérias quanto à captação de aminoácidos. Para isso, ingerem e digerem bactérias, fungos e partículas pequenas de alimentos. A digestão das bactérias proporciona proteínas que liberam peptídeos e aminoácidos que se incorporam à célula do protozoário. Estes também conseguem desaminar aminoácidos, no entanto, não são capazes de utilizar amônia para a síntese de novos aminoácidos. Além disso, possuem baixa taxa de passagem para o intestino o que contribui pouco para o fluxo de PMic. Já os fungos, devido a sua reduzida população, são insignificantes para o processo de degradação proteica (SANTOS, 2006).

Fonte: (Adaptado de OWES; ZINN, 1988).

Figura 1 - Diagrama das principais reações da fermentação de carboidratos, catabolismo proteico e biossíntese celular pelos microrganismos do rúmen

Segundo NRC (1985), uma suplementação com proteína não degradável no rúmen pode ser interessante para otimizar a síntese microbiana ao utilizar proteína alimentar de baixa degradabilidade ruminal, principalmente em teores de metionina e lisina.

A combinação de fontes ricas em proteína não degradável no rúmen, na tentativa de balancear uma fonte proteica a partir de aminoácidos essenciais, tem sido sugerida por diversos nutricionistas. Neste caso, o fornecimento de maiores quantidades de PNDR seria justificado pelo fato das vacas em lactação necessitarem de quantidades de aminoácidos e peptídeos superiores às fornecidas pelo suprimento de proteína bacteriana (SANTOS, 2006). No entanto, segundo Van Soest (1994), aumentos nas porcentagens de PNDR não resultam em aumentos da produtividade do leite. Esta associação negativa entre ingestão de PB e produção pode ser explicada pelo gasto energético da transformação do excesso de amônia em ureia pelo fígado, o que reduz a disponibilidade de energia para a produção de leite. Segundo este mesmo autor, o animal gasta 12 kcal/g de excesso de nitrogênio excretado na conversão de amônia em ureia no fígado.

3.2.3.1 Determinação de síntese de proteína microbiana

A absorção de N no duodeno pode ser estimada a partir da excreção urinária de derivados de purina (principalmente alantoína e ácido úrico). A quantidade de ácidos nucleicos microbianos e síntese microbiana ruminal estão correlacionadas à excreção urinária de derivados de purina (MOSCARDINI; WRIGHT; LUIMES, 1998).

Os métodos para mensuração de produção de proteína *in vivo* possuem limitações. O uso de marcadores microbianos como RNA, DAPA e 35S, possui complexidade quanto à mensuração do fluxo da digesta, além da necessidade de animais com cânula pós-ruminal, o que dificulta os estudos (FAO/IAEA, 2003).

González-Ronquillo; Balcells e Guada (2003), em estudos com derivados de purina urinários, identificaram neste método um potencial na detecção de alterações na síntese microbiana ruminal com mesma eficiência da técnica utilizada com indicadores. Atualmente, este método vem sendo utilizado por não ser invasivo, além de sua simplicidade e praticidade o que o torna viável para uso em sistemas comerciais. A mensuração destes derivados refere-se à identificação das concentrações de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina coletivamente. Estas duas últimas são convertidas em ácido úrico pela xantina oxidase e este ácido convertido em alantoína pela uricase. Altas concentrações de xantina oxidase no plasma de bovinos leva a total conversão de hipoxantina e xantina a ácido úrico antes de sua excreção na urina (FAO/IAEA, 2003).

Os ácidos nucleicos contribuem para formação adicional de ácido úrico e alantoína, pois logo após serem degradados no rúmen tornam-se essenciais aos microrganismos, já que os alimentos para ruminantes possuem reduzidos teores de purinas. Com a síntese microbiana, estes ácidos nucleicos absorvidos são degradados e excretados na urina como seus derivados, ácido úrico e alantoína (MOSCARDINI; WRIGHT; LUIMES, 1998). Segundo Valadares, Gonçalves e Sampaio (1997), esta técnica necessita de estimativas da produção total de urina. A creatinina possui excreção relativamente constante e pequena influência de fatores dietéticos sendo usado como indicador da produção urinária. Com isso, não há necessidade de coleta total de urina, utilizando-se uma amostra única denominada *spot* (RENNÓ et al., 2000).

3.2.4 Ciclo da ureia e reciclagem de nitrogênio

A amônia ruminal origina-se a partir do N reciclado para o rúmen na forma de ureia, da degradação da proteína verdadeira e NNP da ração e da degradação das células microbianas mortas no rúmen. Este último sofre ação de mais de 10% da atividade das proteases e ureases no fluido ruminal o que acaba por contribuir com a concentração de proteína microbiana e amônia (SANTOS, 2006).

A concentração de amônia no rúmen é utilizada como indicador da degradação proteica, da eficiência de utilização do nitrogênio da dieta e do crescimento microbiano (RUSSELL et al., 1992). O pico de amônia pode ocorrer 1 a 2 horas após a ingestão de ureia. No entanto, dependendo da degradabilidade proteica da proteína verdadeira este valor chega a 3 a 5 horas, segundo Santos (2006).

Normalmente, segundo este mesmo autor, o fígado converte amônia rapidamente em ureia, pelo ciclo da ureia, o que permite sua baixa concentração no sangue. Este ciclo é responsável pela conversão de 2 moléculas de amônia em 1 de ureia, com gasto de 2 moles de ATP.

Após a liberação da amônia no rúmen em concentrações adequadas, grande parte é absorvida na parede ruminal por difusão até a completa transformação em ureia pelas mitocôndrias hepáticas. Parte desta ureia endógena pode retornar ao rúmen, pela parede, ou pelo sistema digestivo, pela saliva (VAN SOEST, 1994). Em casos de alta liberação de amônia proveniente de fontes de nitrogênio não proteico, como a ureia, a reciclagem de nitrogênio para o rúmen se adapta rapidamente desde que as concentrações de amônia não sejam tóxicas (OWENS e ZINN, 1988). Portanto, quanto maiores às taxas de degradabilidade proteica na ração, maiores podem ser as produções de amônia e perdas na forma de ureia (KOZLOSKI, 2002).

Concentrações tóxicas de ureia no rúmen e no plasma se encontram acima de 100mg/dL e 2 mg/dL, respectivamente, em pH acima de 8. Este processo é consequência de altas ingestões, principalmente, de ureia pelo animal sem a prévia adaptação. No entanto, animais que consomem ração total conseguem liberar lentamente o N o que favorece o sincronismo com a energia no ruminal, é o caso de vacas leiteiras que consomem entre 300 e 450 g/dL na matéria natural sem maiores alterações (SANTOS, 2006).

Segundo Nolan (1993), a eficiência de utilização da amônia pelos microrganismos está diretamente relacionada à disponibilidade de energia no rúmen. A amônia em excesso que atravessa a parede ruminal na forma não ionizada (NH_3) é transportada para o fígado pela veia porta. Na forma ionizada (NH_4^+), a amônia não passa através da parede ruminal. A diminuição do pH atua diretamente neste processo ao favorecer a ionização da amônia e consequente redução da sua absorção, enquanto que a elevação do pH ruminal, favorece a presença de amônia na forma não ionizada, e aumenta sua taxa de absorção.

Segundo Ferrel et. al (2001), o nitrogênio reciclado é alterado por fatores como: relação volumoso e concentrado, consumo de carboidratos altamente fermentáveis, teor e degradabilidade de nitrogênio. Este processo é fundamental para economia de N dos ruminantes, principalmente quando há redução deste componente na dieta. No entanto, este processo de retorno pode causar alteração nas estimativas proteicas do animal. Santos (2006), a quantidade de ureia reciclada no rúmen é maior quanto menor a concentração de amônia neste ambiente, sendo que 10 a 15% do N reciclado para o rúmen é proveniente do nitrogênio ingerido.

3.3 Síntese de proteína microbiana e fermentação ruminal

Segundo Cabral et al. (2004), em razão da proteína microbiana ser a principal fonte de aminoácidos no intestino, muitos estudos avaliaram a eficiência de conversão da parede celular vegetal em massa microbiana. Isto ocorre devido à simbiose entre a síntese microbiana e utilização de energia proveniente dos carboidratos dietéticos com adequada participação dos minerais com funções, principalmente, enzimáticas.

Na matéria orgânica, a constituição de proteínas e lipídios pouco contribui para a eficiência microbiana como função da digestão de carboidratos no rúmen. Com isso, torna-se indispensável entender o sincronismo entre a degradação ruminal das proteínas e carboidratos da dieta para ótimo crescimento microbiano e síntese proteica (RUSSELL; HESPEL, 1981). Há, portanto, uma complexa relação entre proteína dietética e energia e a quantidade de proteína que será utilizada pelo animal (BRODERICK, 2003).

Segundo NRC (2001), concentrações ideais de proteína degradável no rúmen (PDR) na dieta estão entre 10% a 13 % da MS. Abaixo disso, a disponibilidade de energia e proteína metabolizável para o animal pode ser afetada negativamente, assim como as concentrações de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal, o que pode comprometer o desempenho animal.

Para isso, dois conceitos distintos, mas bastante relacionados, devem ser compreendidos: a produção microbiana e a eficiência microbiana. A eficiência de síntese de proteína microbiana (EMic) é definida como a quantidade de N microbiano sintetizado por kg de carboidrato (CHO) fermentado no rúmen. A produção de proteína microbiana (gN) é resultado da quantidade de substrato fermentado no rúmen (carboidrato) e da eficiência microbiana (gN / kg de carboidrato fermentado) (RUSSELL et al., 1992). Portanto, para se aumentar a quantidade de proteína microbiana produzida no rúmen, há duas possibilidades: melhorar a eficiência microbiana ou aumentar a disponibilidade de substrato para os microrganismos. Estas possibilidades podem tornar-se comprometidas quando as fontes proteicas não suprem corretamente as concentrações ideais de nitrogênio ou possuem inadequado perfil de aminoácidos essenciais (SANTOS, 2006).

Segundo Van Soest (1994), além deste sincronismo outros fatores também afetam a fermentação ruminal como: pH e taxa de passagem.

No processo fermentativo, a fração fibrosa dos volumosos é afetada por vários fatores. Dentre eles, o decréscimo do pH parece ser o principal impacto para redução na degradação da fibra. O pH próximo à 6 reduz a digestão da fibra, no entanto, quando se encontra no intervalo de 5,5 a 5,0 pode causar estagnação do crescimento de microorganismos celulolíticos e na digestão da fibra. Pereira et al. (1996b) encontraram valores médios de pH para a dieta constituída de cana e ureia, ou este mesmo volumoso com ureia e concentrado iguais a 7,44, e 6,48, respectivamente. Segundo Clark, Klusmeyer e Cameron (1992) e Van Soest (1994); outro fator importante é a taxa de passagem, que indica a eficiência de crescimento de células microbianas. Este aumento está diretamente correlacionado com a taxa de diluição e renovação das espécies bacterianas. Por exemplo, um crescimento acelerado destes microrganismos pode eliminar espécies com crescimentos mais lentos, ocasionando o desequilíbrio da digestão ruminal.

Além destes, Santos (2006) cita outros fatores que também influenciam no processo de fermentação como o tipo e processamento do carboidrato das dietas, relação volumoso:

concentrado, qualidade e tamanho de partículas da forragem, consumo animal e os sistemas alimentares.

A concentração de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal é consequência do equilíbrio entre produção e utilização pelos microorganismos (ZEOULA et al., 1998). McCarthy et al. (1989) verificaram que o pico de concentração de amônia no líquido ruminal depende das fontes de N presentes na dieta. Quando a ureia é fornecida, este pico ocorre, aproximadamente, duas horas após a alimentação. Para fontes de proteína verdadeira, este pico ocorre ao redor de 3 a 5 horas após a alimentação, dependendo da degradabilidade ruminal dessas fontes (SANTOS, 2006).

Alterações no ambiente ruminal influenciam diretamente a concentração de amônia absorvida pelos microorganismos para a síntese microbiana. Valores de concentração de amônia em torno de 22,2 mg/dL permitem máxima atividade fermentativa no rúmen (SANTOS, 2006). Pereira et al. (1996b), em trabalhos com cana-de-açúcar, encontraram concentrações médias de amônia de 9,5 mg/dL em vacas alimentadas com este volumoso mais ureia e de 11,5 mg/dL para dietas com cana e ureia mais concentrado. Sendo assim, as concentrações ótimas de nitrogênio amoniacal ruminal variam de acordo com a disponibilidade de carboidratos fermentáveis no rúmen. A concentração de amônia ruminal está intimamente relacionada à concentração de ureia circulante no corpo do animal (BRODERIK; CLAYTON, 1997).

Como regra geral, recomenda-se que as dietas para vacas leiteiras contenham de 60 a 65% de PDR (%PB), e deste valor a proteína verdadeira corresponda a 28 a 32%. Se essas quantidades forem insuficientes, a quantidade de carboidratos (CHO) fermentados no rúmen é reduzida, e a produção de PMic comprometida. Mesmo que se forneça quantidade adequada de energia na dieta, a produção de leite pode ser prejudicada se as fontes de proteína não tiverem, em média, a mesma velocidade de degradação no rúmen do que as fontes de carboidrato, o qual é conhecido como desacoplamento energético. Se as fontes de proteína forem de degradação muito lenta em relação às de CHO, os microorganismos ruminais comprometeriam sua capacidade produtiva, o que resultaria em menor quantidade de PM disponível para a vaca. Por outro lado, se a situação for inversa, ou seja, se a degradação ruminal das fontes proteicas for mais rápida que a das fontes de CHO, ou se a ração fornecer quantidade maior de proteína do que a vaca necessita, ocorre sobra de proteína no rúmen, e esse nitrogênio extra será desperdiçado. Para ser excretado na urina, há um custo metabólico

adicional, além de potencial aumento da poluição ambiental, e teores aumentados de ureia no leite e no sangue das vacas (PEREIRA et al., 2005).

Hoover e Stokes (1991) em experimento com vacas leiteiras observaram aumento na síntese de proteína microbiana quando as alimentava com dietas contendo altas proporções de carboidratos não estruturais (31 e 38% na MS) e proteína degradável no rúmen (13,2 e 11,8% na MS) em comparação a dietas contendo baixos teores de carboidratos não estruturais e proteína degradável no rúmen (24 e 9%, respectivamente).

Desta forma, dietas com fontes de amido de lenta degradação e nitrogênio de rápida degradação ruminal, como ureia, propiciaram maiores concentrações de amônia ruminal que dietas com amido de rápida e nitrogênio de lenta degradação ruminal (MCCARTHY, 1989). Aldrich et al. (1993), em experimentos com vacas lactantes, observaram fluxo de proteína microbiana acima da média em dietas com amido altamente degradável no rúmen (milho com alta umidade) e fontes proteicas com teor de PDR altamente degradável no rúmen (farelo de soja).

Hoover e Stokes (1991), com intuito de quantificar as exigências e a degradabilidade de carboidratos em relação à degradabilidade da proteína, constataram a importância no sincronismo para a eficiência produtiva de ruminantes, além de reduzir perdas nitrogenadas sob a visão ecológica e econômica, visando obter excelentes resultados na produção microbiana e animal.

3.4 Digestão e absorção intestinal de proteínas

A proteína metabolizável que chega ao intestino delgado dos ruminantes é composta pelo "pool" de AA disponíveis formado pela PMic, a PNDR que escapa da degradação ruminal e pequena quantidade de proteína endógena, derivada principalmente de células de descamação do epitélio digestivo (SANTOS, 2006).

O processo de digestão destas proteínas no abomaso é similar ao que ocorre em monogástricos, com exceção da neutralização lenta da acidez da digesta duodenal. Em seguida, grande parte da digestão ocorre no jejuno médio onde as enzimas pancreáticas,

tripsina, quimotripsina e carboxipeptidases apresentam máxima atividade. Posteriormente, a digesta segue para o íleo médio, local onde ocorre pico de atividade das aminopeptidases e dipeptidases secretadas pelo intestino. Estes processos, similares ao da absorção de glicose, consomem energia e utilizam transportadores dependentes de sódio sendo os aminoácidos essenciais absorvidos a uma taxa mais rápida que os aminoácidos não essenciais (SANTOS, 2006).

Segundo o NRC (2001), a PMic é calculada como 13% do NDT, sendo este ajustado pelo consumo de MS, concluindo-se que há redução deste NDT a medida que o consumo aumenta devido a não adoção do conceito de fibra efetiva. Este comitê também estipula que 1,18 kg de PDR seja necessária para síntese de 1 kg de PMic produzida. Caso esta quantidade de PDR não seja suprida, considera 0,85 Kg de PDR para este mesmo rendimento de Pmic.

Tanto a PMic como a proteína endógena contêm, além de AA, ácidos nucleicos. A PMic contém 80% de proteína verdadeira e 20% de ácidos nucleicos, com digestibilidade da proteína verdadeira correspondente a 80%, ou seja, o teor de PM na PMic é de 64%. Neste modelo, a proteína endógena contém 50% de proteína verdadeira com digestibilidade de 80%. Já a PNDR é considerada 100% proteína verdadeira que, dependendo da fonte proteica de origem, possui coeficientes de digestibilidade que variam de 50 a 100% (NRC, 2001).

Caracterizada por sua qualidade e quantidade em relação à proteína metabolizável, a PMic possui perfil altamente adequado para produção de leite. Afinal, quimicamente, cada aminoácido essencial pode ser estabelecido quanto ao seu teor na proteína alimentar contendo mesma relação deste teor na proteína do leite de vacas lactantes (PEREIRA et al., 2005).

No tocante à nutrição proteica, a exigência metabólica do ruminante não é por PB, NNP, PDR ou PNDR, mas sim por aminoácidos (AA) já que as células dos tecidos dos ruminantes possuem alta necessidade de AA para seu metabolismo. Alguns tecidos também utilizam peptídeos em seu metabolismo. Os AA devem estar disponíveis para o metabolismo dos tecidos em quantidades e proporções adequadas para eficiência máxima. Sendo assim, o valor nutricional da proteína metabolizável para os ruminantes depende principalmente do seu perfil em aminoácidos essenciais (AAE) (SANTOS, 2006).

3.5 Consumo de matéria seca

O consumo de MS é importante na nutrição animal, pois determina a quantidade de nutrientes destinados a saúde e produção (NRC, 2001). Com isso, em se tratando de produção de leite deve-se considerar os custos da alimentação destes animais, o potencial genético e o ambiente em que o animal está inserido. Os volumosos, portanto, são peças importantes neste processo (CORDEIRO et al., 2007).

O interesse na potencialização do consumo de MS está diretamente relacionado com o desempenho produtivo dos animais. Características físico-químicas dos componentes dietéticos e suas interações podem influenciar o consumo de MS de vacas lactantes, sendo eles: o conteúdo e a qualidade da fibra, a facilidade de hidrólise de carboidratos e fibras, a fragilidade e o tamanho de partículas e os produtos de fermentação das forragens com as taxas de degradação ruminal de proteínas dietéticas (ALLEN, 2000).

Além disso, Russell et al. (1992) cita que a influência das fontes de nitrogênio no consumo de MS se relaciona à capacidade de desaminação ruminal, pois concentrações baixas de amônia podem influenciar negativamente a fermentação. Quando há deficiência de N ruminal, a fermentação das fibras realizadas pelas bactérias que utilizam amônia como exclusiva fonte de N, são altamente prejudicadas. Este processo leva à redução no desaparecimento da fibra, da taxa de passagem e consumo de MS.

De modo geral, o consumo está associado negativamente ao conteúdo de parede celular e positivamente ao grau de digestibilidade da dieta, que, por sua vez, é influenciado principalmente pelas concentrações de PB na dieta (OBEID et al., 2007). A existência de forte relação entre a PB da dieta e o consumo de MS por vacas lactantes está no mecanismo envolvido pela redução no enchimento e aumento na digestibilidade da MS (ALLEN, 2000).

Este consumo possui correlação linear positiva com a velocidade de passagem do alimento no rúmen. Portanto, se este consumo estiver alto a concentração da proteína degradável do rúmen diminui enquanto que a proteína não degradável do rúmen aumenta (ALVES, 2004). Com isso, segundo NRC (2001), o maior consumo e taxa de passagem em vacas de alta produção, aumenta a quantidade de proteína sobrepassante, um bom exemplo de como funciona a dinâmica do modelo que, de acordo com cada situação particular, altera os valores digestivos. Além disso, o alto consumo pode provocar redução do pH ruminal e das

atividades bacteriana e proteolítica. A taxa de passagem para cana-de-açúcar, por exemplo, pode ser calculada da seguinte maneira: $K_p \text{ cana-de-açúcar} = 3,054 + 0,614 \times \text{CMS}$ e $K_p \text{ concentrado} = 2,904 + 1,375 \times \text{CMS} - 0,020 \times \% \text{ do concentrado na dieta}$, em que CMS é o consumo de MS expresso em % peso corporal.

A PB, considerada o segundo componente nutritivo mais importante para os ruminantes, deve ser superior a 7% de PB na MS da dieta, pois, mantém forte influência na redução do consumo, digestibilidade e desempenho animal para estes animais (VAN SOEST 1994).

Segundo Cordeiro et al. (2007), em experimento utilizando cana-de-açúcar corrigida¹ com proporção volumoso: concentrado de 40:60 observaram que quanto maiores teores de PB, PDR e PNDR nas dietas maiores os consumos de MS, exceto para extrato etéreo e CNF. No entanto, Mendonça; Campos e Valadares Filho (2004) conduziram experimento com dietas isoproteicas (15% PB) com quatro tipos de volumosos diferenciados. Um à base de silagem de milho com proporção volumoso: concentrado 60:40, outros dois (60:40) com cana-de-açúcar (com 0,35 e 1% da mistura ureia+ SA) e o último (50:50) à base de cana-de-açúcar corrigida¹. Os autores observaram consumos de MS para estas dietas foram semelhantes.

Costa; Campos e Valadares Filho (2005) forneceram dietas isoproteicas (14,5%) com 60% de volumoso à base de silagem de milho e cana-de-açúcar corrigida¹, nas proporções de 60, 50 e 40% de volumoso e como alimento concentrado, fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, farelo de trigo e matéria mineral. Os autores observaram consumos crescentes para as proporções de 60, 50 e 40% de volumoso à base de cana-de-açúcar, sendo este último os valores de consumo equivalentes a dieta à base de silagem de milho.

Magalhães et al. (2006), estudaram diferentes porções de substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar (zero; 33; 66 e 100%) em dietas isoproteicas (15,1% de PB, média) sem variação nos valores de FDN (média 36%), com relação volumoso:concentrado de 60:40, na base da MS. O aumento dos níveis de substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar reduziu consumo dos nutrientes, exceto lignina e carboidratos não-fibrosos.

Souza et al. (2009), ao avaliar o efeito de dietas com relação volumoso: concentrado 60: 40 com substituição parcial da cana-de-açúcar corrigida¹ por caroço de algodão (0, 7 ou 14% da MS) em comparação à dieta com silagem de milho. Observaram que a inclusão de

¹ com 1% de ureia e sulfato de amônio na proporção de 9:1

caroço de algodão nas dietas com cana-de-açúcar melhora os consumos de MS, nutrientes e o desempenho.

Para Voltolini et al. (2008), ao avaliar diferentes teores de proteína metabolizável em dietas com cana-de-açúcar corrigida² em vacas com produtividades de 10 e 18 kg/dia, não observaram efeitos sobre o consumo de MS. No primeiro grupo o consumo médio foi de 13,7% e no segundo 11,9%, ambas dietas com excesso de proteína metabolizável.

Segundo Pereira et al. 2003 sabendo-se que tanto a PB quanto o NNP influenciam a regulação do consumo de MS, constataram que dietas contendo cana-de-açúcar como volumoso possuem limitações. Com isso, seu uso torna-se inviabilizado sem as devidas correções por conta de sua carência nutricional, principalmente para os teores de proteína (MENDONÇA; CAMPOS; VALADARES FILHO, 2004).

Rodrigues (1999) sugeriu que produções de 20 a 24 kg/dia de leite de vacas em lactação a relação volumoso: concentrado deve se encontrar em torno de 40:60 a 45:55, na base seca, sem que ocorra perda de peso. Alterações na relação volumoso:concentrado, visando aumentar a participação da ração concentrada na dieta, podem inviabilizar o uso da cana-de-açúcar, principalmente sob o ponto de vista econômico. Além disso, quando há aumento nos teores de PDR e PNDR, o CMS acompanha este crescimento sugerindo que a fonte de proteína tem maior relevância que o teor de PB na regulação do CMS.

Segundo Voltolini et al. (2008), pode-se concluir que o CMS dos animais pode ser influenciado por alguns dos fatores ligados à proteína das rações como as fontes e teores proteicos, alterações no sincronismo ruminal e na população microbiana, possíveis mudanças na digestão e absorção dos alimentos pós passagem ruminal e condições de pH.

3.6 Digestibilidade aparente total dos nutrientes

As exigências de nutrientes para manutenção e produtividade são atendidas pelo consumo de MS, principalmente para fornecimento de proteínas e energia para os ruminantes,

² com 1% de ureia e sulfato de amônio na proporção de 9:1

já a digestibilidade representa a descrição qualitativa deste consumo (MOREIRA; PEREIRA; GARCIA, 2001).

A digestibilidade é influenciada por alguns fatores como os níveis do consumo, o efeito associativo entre alimentos, o tratamento físico, o tratamento químico, o tamanho das partículas, a concentração da proteína na dieta e a espécie animal (KITESSA; FLINN; IRISH, 1999). Quanto maior a digestibilidade maior absorção dos nutrientes pelo intestino, consequentemente menores são as perdas pelas fezes. Portanto, a digestibilidade aparente caracteriza-se pela diferença entre as quantidades consumidas e as excretadas nas fezes (MARAIS, 2000). A quantificação da excreção fecal é necessária para o cálculo da digestibilidade aparente dos alimentos. Esta quantificação pode ser feita pela coleta total de fezes ou por indicadores (PAIVA, 2009).

A cana-de-açúcar, principalmente na época da seca, caracteriza-se por manter seu valor nutritivo. Com sua maturidade, aumentam-se os teores de sacarose, do conteúdo celular e da digestibilidade total dos nutrientes, favorecendo o aumento da digestibilidade da MS total (FERNANDES et al., 2003).

Magalhães et al. (2006), em experimento com diferentes níveis de substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar (0; 33; 66 e 100%) em dietas isoproteicas (15,1% de PB, média) sem variação nos valores de FDN (média 36%), e relação volumoso:concentrado de 60:40, na base da MS, identificou que a substituição não afetou as digestibilidades da MS, da matéria orgânica e da PB. A digestibilidade da FDN reduziu, enquanto a dos carboidratos não fibrosos aumentou.

Já Cordeiro et al. (2007), em trabalho com teores crescentes de PB, PDR, PNDR na MS total da dieta com concentrado à base de farelo de algodão e fubá de milho com cana-de-açúcar corrigida³, na proporção 40:60 identificou que os teores de PB na dieta não afetaram os coeficientes de digestibilidade aparente total dos nutrientes.

Mendonça; Campos e Valadares Filho (2004) em experimento com dietas isoproteicas (15% PB) diferenciadas quanto ao tipo de volumoso, silagem de milho (60:40) e cana-de-açúcar (60:40 e 50:50), não encontraram diferenças na digestibilidade aparente da MS, matéria orgânica, PB e carboidratos totais entre as dietas. Os valores médios de digestibilidade da FDN para a silagem de milho e cana-de-açúcar foram 47 e 31%, respectivamente.

³ com 1% de ureia e sulfato de amônio na proporção de 9:1

Costa; Campos e Valadares Filho (2005) forneceram dietas isoproteicas (14,5%) à base de silagem de milho com 60% de volumoso e cana-de-açúcar corrigida⁴, nas proporções de 60, 50 e 40% de volumoso com concentrados: fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, farelo de trigo e matéria mineral. Os teores médios da FDN para silagem milho e cana foram de 53,34 e 35%, respectivamente. Concluiu-se que as dietas com 60 e 50% de cana-de-açúcar apresentaram valores semelhantes para digestibilidades aparentes da FDN e carboidratos não fibrosos. Encontraram, também, valores maiores de digestibilidade da FDN e PB da silagem de milho em relação às dietas de cana. Para os teores de CNF, a digestibilidade com 60% de cana apresentou-se maior, dentre as demais.

Rangel (2005) ao avaliar dietas com cana-de-açúcar corrigida⁴ e farelo de soja (FS) ou níveis diferenciados de ureia de 0,4; 0,8 e 1,2 % constatou aumento da digestibilidade dos carboidratos e nutrientes para as dietas com farelo de soja dentre as demais com diferentes níveis de ureia.

Portanto, estes resultados corroboram os de Broderick (2003), ao citar a complexa importância dos fatores influenciadores da utilização da PB que dependem da sincronização entre CNF: PDR para suprir as necessidades dos microrganismos ruminais, e de PNDR, com a adequada digestibilidade intestinal, suprimindo os requerimentos das vacas.

Nestes estudos, com cana-de-açúcar, os baixos teores de proteína e amido no rúmen levaram aos baixos índices de digestibilidade da fibra. Além disso, a cana por possuir altos níveis de carboidratos solúveis acaba por facilitar as condições para o crescimento de protozoários, predadores de bactérias, resultando em menor crescimento microbiano. Com isso, há necessidade de correção a fim de elevar o teor de PB e maximizar a produção bacteriana (CORDEIRO et al., 2007).

Segundo Carmo et al. (2001), dessa forma, torna-se imprescindíveis estudos para se determinar o adequado suprimento de nitrogênio para os microorganismos maximizarem a degradação da fibra.

⁴ com 1% de ureia e sulfato de amônio na proporção de 9:1

3.7 Produção e composição do leite

O leite, além de sua importância nutricional, tem apresentado novo enfoque produtivo. Os avanços na produção e qualidade do leite tem sido foco de interesse pelo mercado nacional. Estas exigências influenciam diretamente o manejo alimentar dos animais que são exigidos metabolicamente para atender níveis quantitativos e qualitativos de produção dos estabelecimentos leiteiros (PERES, 2001).

Segundo Cordeiro et al. (2007), se as exigências dos animais forem corretamente atendidas é possível maximizar seu potencial genético. Para isso, os microrganismos ruminais necessitam ser nutricionalmente atendidos, já que quanto maiores os requerimentos de carboidratos maiores os de proteína do alimento para maximização da proteína microbiana.

Para que ocorra sincronia entre as fontes de carboidratos e proteínas para adequada composição do leite em relação à fase e idade de lactação das vacas é necessário fornecer quantidades corretas, principalmente, da fração solúvel da proteína degradável do rúmen (NRC, 2001). Se estes valores forem insuficientes, a quantidade de carboidratos fermentados no rúmen diminuirá devido ao aumento da fermentação, comprometendo a eficiência na síntese de PMic e a taxa de proteína metabolizável absorvida pela vaca. Este processo influencia a produção de leite e, conseqüentemente, o teor de proteína do leite, já que este o acompanha proporcionalmente (RIUS et al., 2010).

Segundo Rius et al. (2010), aumentos na produção de proteínas do leite em resposta ao aumento de energia da dieta só ocorre se houver o adequado fornecimento da proteína dietética capaz de suportar a elevação dos teores da proteína láctea.

O NRC (2001) admite que as proteínas necessárias para lactação provem de 67% do uso da proteína metabolizável. Assim, a necessidade de PM para uma vaca é equivalente à quantidade de proteína que ela secreta no leite, dividida por 0,67. Portanto, para uma vaca com produtividade de 25 Kg de leite e 3,5% de proteína deve-se fornecer 1,31 kg de PM diariamente ou ainda, segundo Rius et al. (2010) para cada grama de proteína do leite secretada requer 1,5 g de PM.

Segundo este comitê, para a máxima disponibilidade de PM, deve-se maximizar a síntese de PMic no rúmen. Significa dizer que tanto a produção de leite, como a síntese de

proteína no leite serão maximizadas se a quantidade de PDR na ração ficarem em torno de 12% da MS total, valor considerado ótimo para a síntese de PMic.

A fermentação ruminal também exerce ação sobre os precursores dos componentes do leite. A absorção dos aminoácidos provenientes da fermentação ou síntese proteica pode intervir na proteína láctea em porcentagens relativas a 40% e 60%, respectivamente. O amido e os açúcares, a partir do ácido propiônico, participam em até 50% na síntese da lactose. A fibra fermentável que origina o ácido butírico, pode originar até 20% da gordura do leite, enquanto que a gordura absorvida diretamente pelo intestino em 80% (BARROS, 2002).

Segundo Barros (2002), os produtos nitrogenados como as caseínas, proteínas do soro do leite e nitrogênio não proteico são de grande relevância. Para produção, os dois primeiros encontram-se em quase 94 % da PB do leite tipicamente representada pela proteína verdadeira, e seus principais constituintes são: α -caseína, β -caseína, γ -caseína, κ -caseína, α -lactoalbumina e β -lactoglobulina. O segundo é representado por 6% restantes da PB e são formados por compostos nitrogenados não proteicos.

A composição (%) e a quantidade (g/dia) são preponderantes para determinar as variações das proteínas do leite. A existência de certa constância na regulação da síntese proteica possibilita que a composição não manifeste grandes alterações no caso de aumentos repentinos do consumo de PB da dieta. Esta relação é importante, já que há interferência da produção total de leite afetando a quantidade total de proteína secretada por dia. Por isso, estudos têm focado a relação proteína e energia, ou mesmo, forragem e concentrado como importantes para aumentos na produção total de leite e seu conteúdo proteico (BARROS, 2002).

Com isso, tem-se aumentado o interesse pelo uso de avaliação das concentrações de nitrogênio ureico no leite (NUL), pois, é uma importante ferramenta de manejo para monitorar as condições nutricionais das vacas. Altos valores de NUL podem indicar excesso de proteína. Há correlação entre NUL e os teores de ureia presente no soro sanguíneo, os quais são influenciados por fatores nutricionais e não nutricionais. Além disso, avalia a adequação da relação entre proteína e energia da dieta de vacas em lactação (MEYER et al., 2006).

Dentre os fatores nutricionais, a concentração proteica da dieta proporciona boa avaliação do balanço de PDR, evitando-se perdas de N na fermentação ruminal, entretanto, não esclarece o teor da proteína absorvida (HOF et al., 1997; NOUSIAINEN; SHINGFIELD; HUHTANEN, 2004). Por outro lado, segundo NRC (1989), inadequações energéticas elevam

as quantidades de NH_3 ruminal e N ureico plasmático o que reduz as concentrações de proteína no leite.

Além desses, Hojman; Gips e Ezra (2005) citam fatores não nutricionais como a estação do ano, o número de lactações e o peso vivo das vacas com alta associação positiva com as produções de leite.

Altas concentrações de ureia no rúmen em vacas lactantes alteram negativamente sua eficiência metabólica para produção de leite e influem do mesmo modo na saúde e reprodução (BAKER; FERGUSON; CHALUPA, 1995). A média de NUL em rebanhos recomendados pela literatura se encontra entre 10 a 16 mg/dL. Para os valores de nitrogênio ureico no soro (NUS) são aceitos variações entre 83 a 98% dos valores de NUL, portanto, dividindo-se este último por 0,85 estimam-se os valores de NUS (HARRIS, 1997).

Meyer et al. (2006), encontraram associações negativas em relação às concentrações de NUL e os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, CCS e, positivas, para produção de leite, lactose e sólidos totais (kg). Entre os fatores não nutricionais, a produção de leite e a concentração de proteína do leite foram os que mais se correlacionaram com as concentrações de NUL. No entanto, Hojman et al. (2004), divergem ao relatar associação positiva com os teores de gordura e negativa para os teores de proteína total.

Souza et al. (2009), ao avaliar os efeitos de dietas com substituição parcial da cana-de-açúcar⁵ por caroço de algodão (0, 7 ou 14% da MS) em comparação à dieta à base de silagem concluíram que a produção de leite corrigida⁵ ou não para gordura e a composição do leite, demonstraram melhor desempenho quando em inclusão de 7% de caroço de algodão, em relação à de 14%, em dietas à base de cana-de-açúcar

Para Voltolini et al. (2008), ao avaliar diferentes teores de proteína metabolizável em dietas com cana-de-açúcar corrigida⁵, independente do nível de produção dos animais, não observaram efeitos sobre as concentrações de NUL, dos teores de gordura, proteína e produção de leite.

Nutricionalmente, fontes de nitrogênio da dieta podem contribuir para a alteração da composição da proteína do leite. A cana-de-açúcar tem sido estudada como volumoso devido a sua contínua produtividade ao longo do ano e baixo custo. Cordeiro et al. (2007)

⁵com 1% de ureia e sulfato de amônio na proporção de 9:1

encontraram aumentos de produção de leite e de seus componentes para dietas com teores de PB menores que 16% em dietas com 60% de cana-de-açúcar. Entretanto, experimentos utilizando quantidades maiores de concentrados encontraram aumentos das produções de leite (17 a 24 kg/vaca/dia) utilizando a cana-de-açúcar como único volumoso (MAGALHÃES et al., 2004; MENDONÇA; CAMPOS; VALADARES FILHO, 2004; COSTA; CAMPOS; VALADARES FILHO, 2005; AQUINO et al., 2007; QUEIROZ et al., 2008). Estes autores concluíram que com o aumento da participação dos concentrados nas dietas com cana-de-açúcar pode-se fornecê-la como único volumoso para vacas leiteiras com média de produções iguais a 20 kg, levando-se em consideração fatores econômicos.

Por isso, tem sido prática comum na tentativa de elevar as concentrações proteicas do leite, o uso de fontes não degradáveis no rúmen. Com esse procedimento estas proteínas escapam à degradação ruminal aumentando-se as concentrações de proteínas absorvidas no duodeno (SANTOS; HUBER, 1996). Além disso, segundo Aquino et al. (2009), experimentos utilizando NNP e fontes proteicas com diferentes degradabilidades ruminal também visam encontrar possíveis alterações sobre a composição do leite.

Baker, Ferguson e Chalupa (1995), ao avaliar os efeitos da concentração, degradabilidade e qualidade da proteína da dieta sobre a concentração proteica do leite verificaram correlação positiva entre o teor de PV do leite e o suprimento de PDR.

Costa; Campos e Valadares Filho (2005) forneceram dietas isoproteicas (14,5%) contendo diferentes proporções de cana-de-açúcar e concentrado ou silagem de milho e não observaram diferenças entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros de composição do leite.

Magalhães et al. (2006), em experimento com substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar (0; 33; 66 e 100%) em dietas isoproteicas (15,1% de PB, média) observaram que a cana-de-açúcar pode ser substituída em até 33% para silagem de milho pela vacas com produção média de 24 Kg, sem comprometer eficiência na utilização dos nutrientes e a estabilidade do rúmen. No entanto, Aquino et al. (2009) em experimento com dietas isoenergéticas (1,53 Mcal/kg de EL) e isoproteicas (16% PB), ração controle à base de farelo de soja e cana-de-açúcar e outras duas similares a esta mas com concentrações de 0,75 ou 1,5% de ureia em substituição ao farelo de soja. Observaram que a inclusão de até 1,5% de ureia na MS da dieta de vacas do terço médio de lactação não afeta o desempenho produtivo nem a composição do leite.

Para Vilela et al. (2007) ao estudar dietas com substituição de farelo de soja pela amireia e cana-de-açúcar *ad libitum*. Concluíram que há viabilidade na substituição total do farelo de soja pela amireia.

Estes estudos corroboram a teoria proposta pelo NRC (2001), que considera resposta linear da produção de leite com o adequado suprimento de energia e proteína. Com isso, as dietas devem correlacionar adequações quanto às proporções.

3.8 Parâmetros metabólicos sanguíneos

A bioquímica do plasma sanguíneo representa de modo fiel o estado metabólico do animal e para nutrição representa o comportamento do organismo diante de desafios nutricionais e fisiológicos (GONZÁLEZ, 2002).

O plasma sanguíneo possui alta correlação com a composição e digestibilidade dos alimentos. Assim, suplementos proteicos interferem diretamente na composição do plasma sanguíneo e composição do leite de vacas lactantes, o que acaba por indicar a qualidade desse produto. Lipídios, carboidratos e proteínas presentes na composição sanguínea interferem no aprimoramento do padrão nutricional já que suas avaliações dão indícios de desequilíbrios metabólicos sejam eles nutricionais, produtivos ou relativos à própria saúde animal (CALIXTO JUNIOR et al., 2010)

Segundo este autor, a proteína é altamente limitante para produção de leite. Vacas em lactação, principalmente no primeiro terço, mobilizam altas quantidades deste composto. Portanto, estes animais possuem alta dependência do alimento ingerido e consequentemente da fermentação ruminal para o adequado fornecimento dos nutrientes necessários.

A albumina, proteína mais abundante do plasma, é um indicador do estado proteico do animal devido à baixa velocidade de síntese e de degradação. A presença de uma hipoalbuminemia juntamente a níveis baixos de ureia indicam deficiência proteica, caso estes últimos estiverem com níveis normais ou altos podem indicar falha hepática (GONZÁLEZ, 2002).

A ureia, um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína (GONZÁLEZ, 2002), está presente nos fluidos, principalmente no sangue e no leite. É altamente dependente da conversão em amônia pelo fígado para ser liberada devido a sua toxicidade e evita que o organismo adoça pela ingestão de alimentos proteicos (LENG; NOLAN, 1984). Experimentos com cana-de-açúcar admitem níveis normais de ureia plasmática entre 15 e 40 mg/dl (VILELA; TEIXEIRA; REIS, 2005).

O aporte de proteína e energia influencia diretamente na presença da ureia na corrente sanguínea. A falta de sincronismo destes dois componentes acarreta casos de altos consumos proteicos, e aumento de ureia no sangue devido ao não aproveitamento destas proteínas dietéticas (LENG; NOLAN, 1984). Este sincronismo não indica apenas a eficiência do catabolismo proteico exercido pelas bactérias, mas também o executado pelos tecidos.

A variação de glicemia para o ruminantes é de 40 a 60 mg/dL (FRASER, 1991). A glicose é originada no fígado a partir do glicerol, lactato, proteína e propionato. Este último é proveniente do único AGV usado para a gliconeogênese. Já as proteínas, segunda fonte mais importante, contribuem com 20 % a 50% das taxas de glicose dependendo do estado fisiológico do animal (REECE, 1996).

Dependendo da fase produtiva das vacas lactantes, a glândula mamária necessita de aporte extra de glicose para síntese de lactose e glicerol e NADPH para síntese de ácidos graxos a partir do acetato. Os principais precursores da lactose são a glicose (80 %) e o glicogênio a partir da proteína (12%) (REECE, 1996).

Os lipídios dietéticos em ruminantes adultos têm sido cada vez mais estudados. Na fase adulta dos ruminantes são ingeridos em pequenas proporções. Do total de lipídios da digesta, a fração lipídica microbiana compreende entre 10 a 20%, nos protozoários, este índice é três vezes maior, e a menor porção está ligada às partículas da digesta (CALIXTO JUNIOR et al., 2010).

As lipoproteínas HDL, LDL e VLDL carregam o colesterol pelo plasma, sendo que mais de 50% dele apresenta-se na forma esterificada com ácidos graxos e representam quase 30% do total lipídico plasmático. No âmbito nutricional e produtivo, seu aumento pode indicar dietas ricas em gorduras e vacas em início de lactação. Do contrário, baixos teores podem ser oriundos de vacas em período pré-parto ou com deficiências energéticas provenientes das dietas (GONZÁLEZ, 2002).

Vilela, Teixeira e Reis (2005), em experimento com cana-de-açúcar como volumoso e dietas isoenergéticas e isoproteicas com substituição de farelo de soja pela amireia nas proporções de 0%, 33%, 66% e 100% não encontraram alterações das concentrações plasmáticas de glicose, ureia e nitrogênio ureico.

Imaizumi (2000), em experimento comparando farelo de soja e ureia também não encontraram alterações de N ureico no plasma.

Pires et al. (2008), ao estudar dietas com cana-de-açúcar na proporção volumoso: concentrado de 40:60 e diferentes processamentos ou fonte de amido não encontraram alterações nas concentrações de glicose e ureia plasmáticas. Martinez (2008), ao avaliar dietas com caroço de algodão de vacas em lactação e cana-de-açúcar, não observaram alterações quanto a glicose plasmática. Entretanto, houve aumento na concentração de nitrogênio ureico no plasma com a inclusão de 34% de caroço de algodão na ração.

Para Voltolini et al. (2008), diferentes teores de proteína metabolizável em dietas com cana-de-açúcar corrigida⁶ para vacas de baixa e média produção não observaram efeitos sobre as concentrações de NUL e no plasma (NUP).

Parâmetros sanguíneos como indicadores proteicos, portanto, podem ser alterados pelo perfil nutricional das proteínas, aspectos de manejo, saúde e estado fisiológico dos animais. Quando estes indicadores encontram-se fora intervalo de referência deve-se analisar a possibilidade de correções para evitar reduções na produção, fertilidade e rentabilidade (CONTRERAS, 2000).

3.9 Fontes proteicas

3.9.1 Farelos de soja

Os farelos muito utilizados como suplementos proteicos em dietas à base de cana-de-açúcar e ureia visam acrescentar componentes como o amido e/ou proteína que caso escapem à digestão microbiana do rúmen são absorvidos no intestino delgado na forma de glicose e

⁶ com 1% de ureia e sulfato de amônio na proporção de 9:1

aminoácidos (COSTA, 2008). Estes suplementos são provenientes do segundo composto mais importante para os ruminantes, a proteína. O farelo de soja é um suplemento tradicional em dietas de ruminantes, possui alto requerimento e onerosidade na formulação das dietas (PINA et al., 2006)

Experimentos com dietas à base de cana-de-açúcar indicam que o farelo de soja parece ser a melhor fonte proteica devido aos bons resultados de consumo e digestibilidade da MS em relação a outras fontes com mesma degradabilidade proteica (YOUSSEF, 1987). Além disso, o farelo de soja é um dos ingredientes mais utilizados em dietas de ruminantes devido a sua reduzida concentração de fatores antinutricionais, o que permite um eficiente sincronismo entre este farelo proteico e milho (energia).

Para produção, segundo Santos; Huber e Theurer (1998), o farelo de soja possui perfil de aminoácidos inferior apenas ao da proteína microbiana e da farinha de peixe. Esta correlação se torna importante a partir de que a síntese proteica do leite é considerada compatível ao perfil de aminoácidos na digesta duodenal. Por outro lado, o excesso desta fonte proteica causa perda de sua qualidade “natural”, alta liberação de produtos nitrogenados no rúmen e concentração de ureia plasmática, o que interfere negativamente no metabolismo animal.

Costa; Campos e Valadares Filho (2005) ao avaliar cana-de-açúcar e silagem de milho em diferentes proporções e concentrado com fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, farelo de trigo e matéria mineral não observaram alterações entre os tratamentos para nenhuma variável de composição do leite.

Já Magalhães et al. (2006), em experimento com alimentos concentrados como milho e farelo de soja em dietas isoproteicas com diferentes níveis de substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar (0; 33; 66 e 100%) constataram que a substituição com 40% de concentrado para vacas produzindo 24 kg de leite não afetou a utilização dos nutrientes e a estabilidade do rúmen.

Para Imaizumi et al. (2006), em experimentos com substituição parcial do farelo de soja por 1% de ureia não afetaram a produção de sólidos do leite nem a conversão alimentar de vacas.

Além do farelo de soja, alternativas como soja grão associada a fontes ricas em PNDR podem contribuir na melhor relação energia: proteína sem comprometer o desempenho animal (VASCONCELOS et al., 2010).

3.9.2 Grão de soja

Na nutrição de ruminantes, o uso de sementes oleaginosas que possuem liberação lenta de gordura tem sido utilizado com a finalidade de conhecer o melhor uso dessa fonte na dinâmica ruminal, principalmente na degradabilidade da fibra (SULLIVAN et al., 2004).

O grão de soja é utilizado em dietas para ruminantes em sua forma integral (crua) ou processada (CORRÊA, 2007). Esse grão possui alto teor proteico e energético, caracterizado como boa fonte proteica. Segundo NRC (2001), apresenta 19,20 % de óleo e 39,20 % de PB na MS com alto valor biológico. No entanto, é uma boa fonte de lisina, mas possui deficiência em metionina e treonina, além da presença de fatores antinutricionais que atuam negativamente sobre o desempenho animal (BELLAYER et al., 2002).

Segundo Alves (2004), este grão possui alta degradabilidade proteica e, com isso, pode ocorrer alta perda de nitrogênio pela urina e sobrecarga hepática de amônia, o que pode reduzir o desempenho reprodutivo. Devido aos seus altos teores de PDR, pode ser convertido em PNDR por meio de tratamentos térmicos, o que resulta em teor de proteína não degradável no rúmen de 27% para 65% da PB. Possui também elevado teor energético devido à alta concentração de extrato etéreo (SATTER, 1994).

Segundo Sullivan et al. (2004), as concentrações de extrato etéreo nas rações de ruminantes devem apresentar-se em no máximo 4% da MS, valor abaixo do estipulado por Van Soest (1994) e Palmquist (1995), 7% e 8% da MS, respectivamente. Os lipídeos podem diminuir a digestibilidade das frações fibrosas da dieta. Porém, nos grãos de soja, as gotículas contendo estes compostos encontram-se inseridas em uma matriz proteica, conferindo-lhes proteção natural. No entanto, altos teores de ácidos graxos insaturados causam toxidez aos microrganismos e pode aderir-se ao alimento o que dificulta a digestão destes nutrientes. Estes efeitos são reduzidos pela lise e biohidrogenação destes lipídeos pelas bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerovibrio lipolytica* e *Propionibacter*.

A soja sem tratamento térmico pode ser incorporada em rações para vacas leiteiras. No entanto, deve-se ter cautela devido à ineficiência para inativação dos fatores antinutricionais pelo rúmen. Com isso, há redução da digestão intestinal e da fração que escapa da degradação do rúmen (WESTWOOD; LEAN; KELLAWAY, 1998). Além disso, a soja crua contém enzimas que podem deteriorar os grãos, por isso, é recomendado seu armazenamento. Entre

estas enzimas, a urease pode hidrolisar a amônia, proveniente da ureia das rações, e que pode resultar em queda no consumo de MS (ISHLER; VARGA, 2000).

Sarmento et al. (2001), ao avaliar o valor nutritivo do bagaço de cana-de-açúcar pela amonização com inclusões de soja crua como fonte de urease adicionado a 7,5% de ureia na MS verificaram redução da FDN com a adição do grão de soja.

Bateman e Clark (2000) detectaram que este grão na dieta proporciona aumentos na produção de leite superiores aos formulados com farelo de soja para vacas leiteiras. Alguns estudos relacionam este desempenho à alta disponibilidade de ácidos graxos insaturados e boa aceitação desta fonte pelos animais (PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Quanto à utilização de tratamentos térmicos do grão, Carvalho e Mühlbach (2002) em trabalhos utilizando vacas Holandesas com produção média de 27kg/dia no primeiro terço de lactação, compararam três dietas de grão tostado e quebrado (3 kg/dia), com a mesma quantidade de grão de soja cru e farelo de soja observaram que o grão de soja tostado diminui a degradabilidade proteica ruminal e o teor de nitrogenio ureico no leite. Estes autores constataram diminuição da produção de leite para as vacas que receberam grão de soja cru quando comparada com a soja tostada.

Estudos sobre o grão de soja cru na alimentação de vacas leiteiras com dietas à base de cana-de-açúcar ainda são escassos. Mas tem sido crescente sua importância devido ao alto teor de proteína destes grãos e baixo custo quando em substituição ao farelo de soja.

3.9.3 Farelo de Glúten de Milho

Com o crescimento da demanda de recursos alimentícios em nível mundial, aumenta-se a necessidade de utilização de fontes voltadas à nutrição animal não competitivas ao homem (SANTOS et al., 2002).

Resíduos agroindustriais na alimentação animal possuem vantagens econômicas, redução do impacto ambiental e valores nutricionais adequados. Com isso, o conhecimento de sua composição bromatológica, dos fatores limitantes, do desempenho animal, torna-se imprescindíveis (MENEGETTI; DOMINGUES, 2008).

Na indústria do amido, o farelo de glúten de milho (FGM) constitui-se como um dos principais subprodutos. Obtido através da separação e concentração do glúten extraído do milho pelo processo de moagem úmida. Há similaridade das composições nutricionais do milho com FGM, úmido e seco, devendo-se sempre analisar os teores nutricionais deste último antes de sua utilização (FERNANDES, 2003).

O FGM pode ser considerado uma fonte proteica não degradável no rúmen (55% da PB), com alto teor de metionina e limitação de lisina. Classificado também como fonte energética rica em ácidos graxos insaturados (FERNANDES, 2003).

Segundo este mesmo autor, o FGM é comumente substituído pelo farelo de soja. No entanto, devido as suas características, não deve ser adotado como exclusiva fonte proteica. Sua substituição, de acordo com o balanceamento da dieta, deve se encontrar em torno de 3 a 6 %.

Silva (2006) ao avaliar níveis (0,0; 3,5; 7,0; 10,5 e 14,0%) de resíduo da maceração do milho (FGM) em substituição ao farelo de soja com volumoso à base de capim Tifton (*Cynodon dactylon*) concluíram que a inclusão do resíduo diminuiu o consumo, no entanto, a digestibilidade dos ingredientes, a produção de leite e o teor de gordura não foram alterados.

O farelo de glúten de milho possui rápida e alta degradabilidade da FDN (FIRKINS; BERGER; FAHEY JUNIOR, 1985) e alta porcentagem da FDA. Com isso, restringe a concentração energética e pode reduzir, consideravelmente, o consumo das rações. Apesar disso, possui boa digestibilidade (61% a 68%) (GREEN et al., 1987).

Devido à carência de gordura e amido com alta porcentagem da FDN, o farelo de glúten de milho é bastante utilizado em rações baseadas em grãos e silagem de milho (FELLNER; BELYEA, 1991). Segundo estes mesmos autores, a substituição parcial do concentrado ou em proporções da dieta total pelo FGM tem obtido bons resultados no desempenho de vacas em lactação. Observaram também que esta substituição em até 60% da MS da ração promove aumento nos teores de proteína do leite

No entanto, Schroeder (2003) identificou que a inclusão do FGM próximo a 45% da MS não altera a produção de leite corrigida⁷ e nem os teores de sólidos totais. Este autor

⁷ com 1% de ureia e sulfato de amônio na proporção de 9:1

determinou que para máxima produtividade leiteira a inclusão de FGM deveria ser de 18,6% da MS.

Pedroso e Carvalho (2006) observaram respostas variadas de consumo de MS quando utilizaram FGM úmido e seco. Segundo eles, estas respostas, podem ser explicadas pela baixa porcentagem da MS (abaixo de 50%), variação da composição nutricional do FGM e dieta, período de adaptação e variações nas formulações fornecidas.

Branco et al. (2001) analisaram dietas com ureia, farinha de penas e farelo de glúten de milho e verificaram que a eficiência microbiana aparente e verdadeira foi maior para a dieta com FGM e semelhante para as outras duas dietas.

Não foram encontradas informações na literatura sobre a utilização de farelo de glúten de milho em dietas à base de cana-de-açúcar em bovinos leiteiros para avaliação do consumo, produção de leite e digestibilidade. As referencias mencionadas são baseadas em dietas contendo como volumoso a silagem de milho.

Portanto, as diferentes respostas de dietas com inclusões de FGM pressupõem que há necessidade de estudos esclarecedores desta fonte na composição total da dieta, dos fatores não nutricionais e aceitabilidade animal, procedimentos para o bom desempenho produtivo.

3.10 Cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) em dietas de vacas leiteiras

A cana-de-açúcar é uma das culturas que mais se expandiram em 2009, com 572,5 mil hectares, aumento de 7% desde 2008, o que representa 17% da produção de culturas nacional (IBGE, 2009). A cana-de-açúcar tem demonstrado alto potencial de produção, facilidade de cultivo e baixo custo quando utilizado como volumoso no período de estiagem em relação a alimentos tradicionais como silagens de milho e sorgo (MENDONÇA; CAMPOS; VALADARES FILHO, 2004). O uso adequado da cana-de-açúcar pode permitir produções de até 30 kg de leite por vaca/dia o que indica que esta forrageira deve ser avaliada visando maximizar seu potencial (QUEIROZ et al., 2008).

Estudos desde 1913 já mencionavam a cana-de-açúcar como suplemento alimentar para animais, e Santos; Huber e Theurer (1998); Santos et al. (1998) concluíram a adição de

fontes de nitrogênio de baixo custo, como a ureia, e amido degradável no rúmen podem ser fornecidas em dietas para vacas com produção diária entre 30 a 36 litros de leite (VILELA et al., 2007).

No Brasil, o uso da cana-de-açúcar como volumoso para vacas leiteiras é uma boa alternativa para estágios de lactação em que a exigência nutricional é mais baixa (CORREA et al., 2003). A cana-de-açúcar é um volumoso energético que possui alta produção por unidade de área e disponibilidade durante todo o ano. A manutenção do valor nutritivo durante todo o seu ciclo caracteriza-a como boa opção para alimentação de bovinos, especialmente durante os períodos de seca.

No entanto, suas limitações nutricionais devem ser consideradas. A cana-de-açúcar tem baixa disponibilidade de precursores glicogênicos devido aos baixos teores de proteína, ausência de amido e produção moderada de ácido propiônico. Contudo, possui ainda limitação nas concentrações de lipídios, minerais, especialmente o fósforo, além de baixa digestibilidade da fibra, presença de carboidratos de rápida fermentação e aminoácidos sulfurados limitantes. Com isso, o uso de cana-de-açúcar pode resultar em menor consumo de MS, o que exige consideração especial na formulação das dietas, principalmente, em relação à categoria animal (DEMARCCHI, 2001). Apesar destas limitações, o uso racional da cana-de-açúcar pode ser benéfico e economicamente viável (MAGALHÃES et al., 2004; AQUINO et al., 2007, 2008).

Além disso, Correa et al. (2003), enfatizam que a utilização da cana como forrageira dietética exclusiva pode reduzir o consumo de matéria seca e a produção de leite de vacas de alta produção, principalmente em início de lactação. Por isso, estes autores, recomendam o uso deste alimento para vacas Holandesas com menor produção, normalmente em meio e final de lactação.

Segundo Carmo et al. (2001), grande parte destas limitações é devido ao processo de maturidade que ocorre nesta forrageira. Com isso, reduz os teores de PB e a degradabilidade da fibra com aumento dos teores da MS, conteúdo celular e digestibilidade total. Este aumento da digestibilidade é devido, principalmente, às inclusões de extrativos não nitrogenados e aumentos das concentrações de sacarose, responsáveis pelos valores nutritivos da planta (PATE, 1977).

Entre 10 a 15 % do nitrogênio das forragens frescas é de origem não proteica e encontram-se na forma de peptídeos, aminoácidos livres e nitratos. Devido a esta baixa

concentração faz-se o uso de misturas de ureia com sulfato de amônio (9:1) para cada 100 kg de cana-de-açúcar fresca (SANTOS, 2006).

Altas concentrações de carboidratos solúveis favorecem o crescimento de protozoários. Quando há alto crescimento celular destes microrganismos ocorre aumento da predação de bactérias ruminais, o que torna necessária a elevação do teor de PB para maximização da produção bacteriana (BORGES; PEREIRA, 2003).

A cana-de-açúcar pode ser fornecida a vacas leiteiras, no entanto, sua principal limitação nutricional está relacionada à indigestibilidade da fração fibrosa, o que reduz a quantidade de MS ingerida (MAGALHÃES et al., 2004).

Mendonça, Campos e Valadares Filho (2004) relataram que além da redução na quantidade de MS ingerida, o uso de cana-de-açúcar aumenta a participação do concentrado e resulta na maior produção de leite, sem alterar a composição desta.

Segundo Figueira et al. (1993) ao estudarem a dinâmica digestiva de ruminantes alimentados com dietas à base de cana-de-açúcar com inclusão de ureia em diferentes níveis (1%, 1,5% e 2% na MN), não observaram diferenças nas taxas de passagem e tempos médios de retenção digestivos (FIGUEIRA et al., 1993)

Dietas com farelo de algodão e arroz à base de cana-de-açúcar têm obtido bons resultados quanto ao fornecimento adequado de proteína e energia, respectivamente. O que resulta na absorção de glicose e aminoácidos no intestino delgado (PRESTON; LENG, 1978a; AROEIRA et al., 1993).

Rodriguez et al. (1993), em experimentos com farelo de soja e cana com 1%, 1,5% e 2% de ureia na MN para bovinos não encontraram diferença significativa para os coeficientes de digestibilidade para MS, FDA e EB. No entanto, a dieta com 2% de ureia obteve maior efeito na digestibilidade da PB.

Portanto, devido à insuficiência de seus nutrientes, principalmente proteínas e minerais, dietas com cana-de-açúcar não devem ser utilizadas como único alimento. Visando aumento da digestibilidade e degradabilidade desta forragem. Para o bom desempenho de vacas leiteiras, deve-se suplementá-la, principalmente, em seus teores proteicos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local, Instalações e Animais

O experimento foi realizado no Confinamento Experimental da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga, na Universidade de São Paulo. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa com peso médio de 580 ± 79 kg de peso, média de 110 dias de lactação e 19,1 Kg/vaca/dia (NRC, 2001). Os animais foram agrupados em três quadrados latinos contemporâneos balanceados 4x4, com duração do período experimental de 21 dias, sendo 14 dias de adaptação e 7 dias de coleta de amostras.

4.2 Rações Experimentais e Análise dos Alimentos

Foram utilizadas as seguintes rações experimentais isoproteicas (15,7 %), formuladas segundo o NRC (2001): Controle: 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, farelo de soja e ureia; Alta degradabilidade: 71,33% PDR, 29,29% PNDR, farelo de soja e alta concentração de ureia (1,7% da MS); Média degradabilidade: 69,42% PDR, 31,21% PNDR, soja crua em grão e Baixa degradabilidade: 62,42% PDR, 37,57% PNDR, farelo de glúten de milho como fonte proteica. Durante o período experimental foi utilizada cana-de-açúcar como volumoso. As rações e água foram fornecidas *ad libitum*.

As pesagens das quantidades dos volumosos, dos concentrados fornecidos e das sobras de cada ração experimental foram estimadas a partir do consumo individual. Os animais foram arraçoados de acordo com o consumo de MS no dia anterior, de forma a ser mantido percentual de sobras das dietas entre 5 e 10% do fornecido, para não haver limitação de consumo. As amostras dos alimentos fornecidos foram coletadas e armazenadas a -20°C para posteriores análises bromatológicas.

O valor do grau Brix[®] da forrageira foi determinado em refratômetro de campo (marca Handheld[®], *refratocmter model* RHBO-90) e apresentou valor médio de 16°. A cana-de-açúcar, variedade forrageira, foi colhida manualmente, armazenada próximo ao estábulo no

dia anterior ao seu uso. Antes do fornecimento da ração às vacas, a cana foi submetida à picagem (Picadora – marca Nogueira, modelo EM-9F3B), sem retirada da palha, e cortada em fragmentos de tamanho médio de 2 a 3 cm.

A proporção dos ingredientes no concentrado e dieta total, assim como a composição bromatológica das rações experimentais, concentrados e ingredientes encontram-se nas tabelas 1, 2, 3, 4 e 5.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes do concentrado, expressa na matéria seca (%MS)

Ingredientes (%)	Concentrados experimentais			
	Controle	Alta	Média	Baixa
Fubá de Milho	58,25	65,05	46,79	59,03
Farelo de Soja 48% PB	31,20	23,08	12,39	25,11
Grão de Soja Integral in natura	-	-	30,55	-
Farelo de glúten de milho	-	-	-	5,32
Ureia	1,71	2,92	1,28	1,74
Sulfato de Amônia	0,18	0,18	0,18	0,09
Bicarbonato de Sódio	1,26	1,28	1,28	1,19
Óxido de Magnésio	0,45	0,46	0,46	0,46
Agromix Leite USP	5,86	5,93	5,96	5,96
Calcáreo	0,63	0,64	0,64	0,64
Sal Comum	0,45	0,46	0,46	0,46

Tratamentos isoproteicos (15,7%), contendo dietas: 1Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, 2Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, 3Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e 4Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR.

Tabela 2 – Composição percentual dos ingredientes nas rações

Ingredientes (%)	Rações experimentais			
	Controle	Alta	Média	Baixa
Fubá de Milho	30,39	33,52	24,01	30,29
Farelo de Soja 48% PB	16,40	11,99	6,42	12,27
Grão de Soja Integral in natura	-	-	16,00	-
Farelo de glúten de milho	-	-	-	2,67
Ureia	1,02	1,71	0,75	1,02
Sulfato de Amônia	0,10	0,10	0,10	0,05
Bicarbonato de Sódio	0,75	0,75	0,75	0,69
Óxido de Magnésio	0,27	0,27	0,27	0,27
Agromix Leite USP	3,47	3,48	3,48	3,48
Calcáreo	0,37	0,37	0,37	0,37
Sal Comum	0,27	0,27	0,27	0,27
Cana-de-açúcar	46,95	47,53	47,57	47,92

Tratamentos isoproteicos (15,7%), contendo dietas: ¹Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, ²Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, ³Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e ⁴Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR.

Tabela 3 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDN corrigida para nitrogênio, (FDNn), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), lignina (LIG), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), CNF corrigido para cinzas e proteína (CNFcp), energia líquida de lactação (ELL), nutrientes digestíveis totais (NDT) e energia bruta (EB), obtidos para os ingredientes

Itens	Cana-de-açúcar	FS ⁶	FM ⁷	GS ⁸	FGM ⁹
MS¹	29,10	94,10	92,90	94,76	94,86
MO²	97,20	93,14	98,10	94,74	98,35
MM²	2,80	6,86	1,90	5,26	1,65
PB²	2,76	49,77	10,93	37,77	70,68
NIDA³	1,86	9,70	8,34	7,16	2,37
NIDN³	0,86	5,95	0,94	3,59	2,18
EE²	0,35	2,61	4,93	16,36	5,40
FDN²	44,74	13,00	14,21	17,62	5,23
FDNcp²	43,88	7,61	13,26	14,03	4,72
FDNn	41,23	7,17	12,30	11,86	4,36
FDA²	28,49	11,71	5,36	18,39	3,00
FDAi²	12,35	0,60	0,64	0,51	0,73
LIG²	3,58	3,42	2,84	4,12	5,42
CT²	94,09	43,37	76,51	56,97	27,68
CNF²	49,35	27,76	68,03	22,98	17,05
CNFcp²	50,21	33,15	68,98	26,57	17,56
EL_L⁴	1,47	1,90	1,84	2,38	2,69
NDT⁴ (Mcal/kg)	69,17	71,49	81,17	89,75	89,26
EB⁵ (cal/g/MS)	3226,63	4306,63	3979,63	5225,75	5462,50

¹% Matéria natural; ²Valores em porcentagem da matéria seca; ³Valores em porcentagem do nitrogênio total;

⁴estimado pelas equações do NRC (2001); ⁵Obtido em bomba calorimétrica. ⁶FS – Farelo de soja; ⁷FM – Farelo de milho; ⁸GS – Grão de soja e ⁹FGM - Farelo de grão de milho.

Tabela 4 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDN corrigida para nitrogênio, (FDNn), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), lignina (LIG), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), CNF corrigido para cinzas e proteína (CNFcp), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia líquida de lactação (ELL) e energia bruta (EB), dos concentrados experimentais e cana-de-açúcar

Composição química	Concentrados experimentais ¹				Cana-de-açúcar
	Controle	Alta	Média	Baixa	
MS²	94,02	94,02	94,35	94,05	29,10
MO³	86,20	85,32	86,38	86,53	97,20
MM³	13,80	14,68	13,62	13,47	2,80
PB³	26,77	26,92	26,48	27,67	2,76
NIDA⁴	7,89	7,67	7,29	7,49	1,86
NIDN⁴	2,27	1,89	2,22	1,97	0,86
EE³	3,69	3,81	7,63	3,85	0,35
FDN³	12,33	12,24	13,64	11,93	44,74
FDNcp³	10,10	10,39	11,43	9,99	43,88
FDNn³	9,55	9,82	10,39	9,44	41,23
FDA³	6,78	6,19	9,58	6,27	28,49
FDAi³	0,56	0,56	0,53	0,57	12,35
LIG³	2,72	2,64	3,01	2,82	3,58
CT³	55,74	54,59	52,27	55,00	94,09
CNF³	49,91	48,85	45,13	49,58	49,35
CNFcp³	52,14	50,70	47,34	51,51	50,21
EL_L⁵(Mcal/kg)	1,61	1,59	1,76	1,64	1,47
NDT⁵	67,81	67,24	72,70	68,57	69,17

Tratamentos isoproteicos (15,7%)¹, contendo dietas: Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR. 2% Matéria natural; ³Valores em porcentagem da matéria seca;

⁴Valores em porcentagem do nitrogênio total; ⁵estimado pelas equações do NRC (2001).

Tabela 5 - Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDN corrigida para nitrogênio, (FDNn), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), lignina (LIG), carboidratos totais (CT), carboidratos não fibrosos (CNF), CNF corrigido para cinzas e proteína (CNFcp), energia líquida de lactação (ELL), nutrientes digestíveis totais (NDT) e energia bruta (EB) das rações experimentais

Ingredientes (%MS)	Tratamentos ⁶			
	Controle	Alta	Média	Baixa
Fubá de Milho	30,39	33,52	24,01	30,29
Farelo de Soja 48% PB	16,40	11,99	6,42	12,27
Grão de Soja Integral in natura	-	-	16,00	-
Farelo de glúten de milho	-	-	-	2,67
Ureia	1,02	1,71	0,75	1,02
Sulfato de Amônia	0,10	0,10	0,10	0,05
Bicarbonato de Sódio	0,75	0,75	0,75	0,69
Óxido de Magnésio	0,27	0,27	0,27	0,27
Premix mineral	3,47	3,48	3,48	3,48
Calcáreo	0,37	0,37	0,37	0,37
Sal Comum	0,27	0,27	0,27	0,27
Cana-de-açúcar	46,95	47,53	47,57	47,92
Composição química				
MS	63,58	63,20	62,59	62,31
MO¹	90,73	90,26	91,69	91,05
MM²	9,27	9,74	8,31	8,95
PB²	15,68	15,81	15,31	15,53
NIDA³	5,00	4,84	4,66	4,67
NIDN³	1,67	1,44	1,59	1,49
EE²	2,09	2,13	4,14	2,13
FDN²	27,46	27,59	28,35	27,48
FDNcp²	25,88	26,21	26,79	26,10
FDNn²	24,27	24,58	24,92	24,48
FDA²	16,93	16,75	18,54	16,80
FDAi	6,09	6,16	6,15	6,20
LIG²	3,11	3,07	3,27	3,14
CT²	74,54	75,57	75,03	74,33
CNF²	48,40	49,59	45,27	48,12
CNFcp²	49,97	50,96	46,83	49,49
EL_L⁴(Mcal/kg)	1,52	1,51	1,62	1,53
NDT⁴	67,56	67,22	70,86	68,06

¹% matéria natural. ²% matéria seca. ³% nitrogênio total. ⁴Estimado pelas equações do NRC (2001). Tratamentos isoproteicos (15,7%)⁶, contendo dietas: Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR.

Nos alimentos fornecidos e nas sobras foram analisados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e lignina de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25.

Os carboidratos totais (CT) foram calculados segundo Sniffen et al. (1992), em que: $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$. Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados segundo Hall (1998) onde: $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ Ureia} + \% \text{ Ureia}) + \%EE + \%MM + \%FDN]$. Os nutrientes digestíveis (D) totais foram calculados conforme equações do NRC (2001), em que: $NDT = CNFD + PBD + (AGD * 2,25) + FDND - 7$, onde PBD, CNFD, FDND e AGD representam o total destes nutrientes digestíveis. Os nutrientes digestíveis (d) totais observados $NDT = PBd + FDNd + (EEd * 2,25) + CNFd$ foram calculados de acordo com Weiss; Conrad e Pierre (1992).

Os teores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente neutro livre de cinza e proteína (FDNcp), e fibra detergente ácido (FDA) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest et al. (1991), utilizando-se g-amilase sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em Sistema Ankon.

4.3 Digestibilidade Aparente Total

Para determinação da digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes, a quantidade total de matéria seca fecal excretada foi estimada pela concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). As fezes foram coletadas do 15º ao 16º dias de cada período experimental, sempre antes das ordenhas da manhã e da tarde, sendo acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer à -20°C , e ao final do período de coleta foi feita a amostra composta por animal.

As amostras de cana, sobras e fezes foram pré-secadas em estufa com ventilação forçada ($60^{\circ}\text{C}/72$ horas), e, em conjunto com as demais amostras de ingredientes, foram

processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 2 mm (marca Marconi, modelo MA 048).

Para avaliação dos teores dos componentes indigestíveis, as amostras processadas foram acondicionadas em sacos de tecido não-tecido (TNT-100g/m²), com dimensões de 4 x 5 cm. As alíquotas foram acondicionadas em todos os sacos, segundo a relação de 20 mg de MS por centímetro quadrado de superfície (NOCEK, 1988).

Antes da incubação das amostras, duas vacas da raça Holandesa foram adaptadas durante 7 dias com ração a base de farelo de soja, milho moído e cana-de-açúcar como volumoso. Posteriormente ao período de adaptação dos animais, as amostras foram incubadas no rúmen por período de 240 horas, segundo adaptação de técnica descrita por Casali (2006).

Após a retirada do rúmen, os sacos foram lavados com água corrente até o total clareamento desta, e imediatamente conduzidos à estufa de ventilação forçada (60°/72 horas). Após este período, os sacos foram submetidos à secagem em estufa não ventilada (105°/45 minutos), sendo retirados, acondicionados em dessecador (20 sacos/dessecador), e pesados, para obtenção da matéria seca indigestível.

Posteriormente, os sacos foram submetidos ao tratamento com detergente ácido (MERTENS, 2002) por uma hora, em equipamento analisador de fibra Ankon®. Após este período foram lavados com água quente e acetona, sendo secos e pesados conforme procedimento anterior. Ao final deste tratamento, o resíduo foi considerado FDA_i.

4.4 Fermentação Ruminal

Para avaliação dos parâmetros de fermentação ruminal, as amostras de líquido ruminal foram coletadas com a utilização de sonda esofágica três horas após a alimentação da manhã. Logo após a coleta, foram determinados os valores de pH ruminal utilizando potenciômetro. As amostras foram armazenadas em caixa térmica e encaminhadas ao Laboratório de Bromatologia da FMVZ-USP.

As amostras foram centrifugadas a 2000g por 15 minutos, e 1 ml do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio e adicionando-se 0,2 ml de ácido fórmico P.A., arrolhado e identificado e armazenado em congelador a -20°C para determinação de AGV. Da mesma amostra, 2 ml do sobrenadante foram pipetados e armazenados em tubos de ensaio contendo 1 ml de ácido sulfúrico a 1 N, para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3).

A metodologia utilizada para análise de ácidos graxos de cadeia curta foi preconizada por Erwin; Marco e Emery (1961), sendo utilizado cromatógrafo a gás (Modelo 9001 Gas Chromatograph, Marca Finnigan) equipado com coluna de vidro de 02 metros de comprimento x 1/4", empacotada com 80/120 Carbopack B-DA/4% Carbowax 20M. Os gases utilizados foram o nitrogênio como gás de arraste na vazão de 25 ml/minuto, oxigênio como gás comburente na vazão de 175 ml/minuto, e hidrogênio como gás combustível na vazão de 15 ml/minuto. A temperaturas utilizada do vaporizador foram de 220°C , do detector de ionização de chamas de 250°C e da coluna de separação de 195°C por 03 minutos, aumentando $10^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ até 200°C .

Soluções padrões a 0,1 N de ácido acético, propiônico e butírico foram preparadas e padronizadas com hidróxido de potássio (KOH) 0,1 N, a fim de produzir solução padrão de ácidos graxos voláteis de concentração conhecida.

As determinações foram realizadas injetando-se 1 μl de amostra em cromatógrafo integrado a computador, que processava os cálculos de quantificação, utilizando-se do software BORWIN versão 1.21 para cromatografia.

O nitrogênio amoniacal (N-NH_3) foi determinado pelo método de colorimétrico. Foram adicionados ácido sulfúrico 1 N, 1 ml de tungstato de sódio a 10% aos tubos contendo amostras de líquido ruminal, e posteriormente foram centrifugadas a 2500/3000 RPM durante 15 minutos. Em seguida foram pipetados 100 μl do sobrenadante a um tubo limpo e neste adicionados 5 ml do reagente ácido salicílico e 5ml de hipoclorito.

Os tubos foram agitados para homogeneização das amostras e colocados em banho maria a 37°C durante 20 minutos adquirindo coloração verde. Após resfriamento as amostras foram analisadas em espectrofotômetro (modelo *Quick lab*) quanto a sua absorbância e os resultados obtidos foram utilizados em equação de regressão para calcular a

concentração em mg/dl, onde: Concentração de N-NH₃ (mg/dl) = Absorbância – (a)/b; b= r² da equação elaborada a partir do padrão.

4.5 Síntese de Proteína Microbiana

A determinação da síntese de proteína microbiana foi realizada no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP. As amostras utilizadas para análise de alantoína no leite foram coletadas em dois dias alternados (18° e 20° dias), sendo provenientes das duas ordenhas diárias. Uma alíquota de 10 ml de leite foi diluída com 5 ml de ácido tricloroacético a 25%, sendo filtrada em papel-filtro e congelada para posterior determinação dos níveis de ureia e alantoína no leite desproteínizado. Para análise da urina, foi coletada amostra *spot* proveniente do 16° dia de cada período experimental. Alíquotas de 50 ml de urina foram obtidas aproximadamente 4 horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 ml foram diluídas imediatamente em 40 ml de ácido sulfúrico a 0,036N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de ureia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática colorimétrica cinética em aparelho SBA-200 Celmo® (Idade). O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot*, segundo Oliveira et al. (2001).

A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da excreção média diária, estabelecida de 24,05 mg/kg de peso vivo para vacas leiteiras (CHIZZOTTI, 2004). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dl) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia. Os níveis de alantoína e ácido úrico na urina e alantoína no leite foram determinados pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação $Pabs = (DP - 0,236 * PV_{0,75}) / 0,84$, em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e $0,236 * PV_{0,75}$, a excreção endógena de derivados de purina (ORELLANA BOERO; BALCELLS; MARTÍN-ORÚE, 2001).

Foram avaliadas também as purinas absorvidas, considerando-se a excreção endógena de $0,512 * PV_{0,75}$ e a recuperação de 0,70 encontradas por Gonzalez-Ronquillo; Balcells e Guada, (2003). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação (CHEN; GOMES, 1992): $Nmic = (70 * Pabs) / (0,83 * 0,134 * 1.000)$, em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol); 0,134, a relação N purina: N total nas bactérias (VALADARES; BRODERICK; VALADARES FILHO, 1999); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

4.6 Produção e Composição do Leite

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, as 7:30 e as 15:30 horas, sendo a produção de leite registrada diariamente durante todo o período experimental. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC) segundo fórmula de Sklan et al. (1992), onde $PLC = (0,432 + 0,1625 * \text{teor de gordura do leite}) * \text{kg de leite}$.

Durante os últimos 4 dias do período experimental (21 dias), amostras individuais de leite foram coletadas das ordenhas da manhã e tarde (60% correspondente à ordenha da manhã e 40% à ordenha da tarde), a partir do balão de medição. Após a coleta, as amostras de leite foram armazenadas em tubos plásticos até a realização das seguintes análises:

- a) Composição do leite: proteína bruta, proteína verdadeira, caseína e nitrogênio não proteico, ureia, gordura, lactose, sólidos totais.
- b) Contagem de células somáticas (CCS) e concentração de nitrogênio ureico no leite (NUL).

Para as análises de realização imediata após a coleta (análises físico-químicas do leite - gordura), as amostras foram armazenadas por no máximo 48 horas. Para as análises de composição do leite (gordura, proteína, lactose, extrato seco total, EST e desengordurado, ESD), realizadas por absorção infravermelha e para CCS, as amostras foram enviadas para o Laboratório de Fisiologia da Lactação da ESALQ – USP (Clínica do Leite) em no máximo três dias. As análises de nitrogênio total (NT), nitrogênio não proteico (NNP) e nitrogênio não caseinoso (NNC), foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal, da FMVZ-USP, sendo que as amostras de leite individuais foram congeladas (-20° C) até a realização das mesmas.

As frações de NNC e de caseína do leite foram determinadas por metodologia descrita por Lynch e Barbano (1998). A caseína do leite foi precipitada em pH=4,6 usando-se solução de ácido acético e acetato de sódio. Após a precipitação, a caseína foi separada por filtração e a concentração de N do filtrado (NNC), determinada pelo método de Kjeldahl.

A determinação de NNP foi realizada pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995) após preparação prévia das amostras de leite utilizando solução de ácido tricloroacético a 15%, causando coagulação de todas as proteínas do leite que foram removidas por filtração, sendo o filtrado submetido à análise.

Após a determinação da concentração de NNP, fez-se a subtração deste resultado pela concentração de NT e desta forma, pôde-se determinar a concentração de proteína verdadeira. A concentração de caseína foi determinada a partir da subtração da concentração do NNC em relação ao nitrogênio total. A proteína do soro foi determinada a partir da subtração do valor de caseína da proteína verdadeira do leite. O teor de proteína bruta do leite foi calculado multiplicando-se o NT pelo fator 6,38, conforme Barbano e Clark (1990).

Para determinação da ureia e nitrogênio ureico no leite, 10 ml de amostra foram misturados a 5 ml de ácido tricloroacético a 25% em becker de 50ml. Seguido de repouso por 5 minutos. Posteriormente as amostras foram filtradas em papel filtro, sendo o filtrado transferido para endorffs de 2,5 ml, e armazenados em freezer a -20°C. As análises da concentração de ureia no leite desproteinizado foram realizadas no Laboratório do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®). A concentração de nitrogênio ureico no leite foi determinada indiretamente por meio da seguinte fórmula: Nitrogênio ureico = ureia (mg/dl)/2,14.

4.7 Avaliação do Escore de Condição Corporal e Peso Corporal

O escore de condição corporal (ECC) e o peso corporal foram avaliados no sétimo dia de adaptação e no final de cada período experimental, para avaliação da variação de peso.

O peso dos animais foi correspondente à média de duas pesagens sucessivas, feitas antes do fornecimento das alimentações e após as ordenhas durante dois dias. Para o cálculo da variação de ECC e de peso corporal, foram considerados os pesos do sétimo dia de adaptação e do final de cada período experimental. As mensurações do ECC foram realizadas segundo metodologia proposta por Wildman, Jones e Wagner (1982) e desenvolvida por Edmonson et al. (1989).

4.8 Parâmetros Sanguíneos

As coletas de sangue foram realizadas no 16 ° dia de cada período experimental por punção da veia e/ou artéria coccígea, anteriormente ao fornecimento das rações no período da manhã. As amostras foram coletadas em tubos *Vacutainer* de 10 mL para dosagem dos parâmetros sanguíneos: AGNE, triglicerídios, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e colesterol- VLDL, proteínas totais, albumina, ureia e nitrogênio ureico, e glicose.

Imediatamente após coleta, as amostras foram coletadas refrigeradas e centrifugadas a 2000 g durante 15 minutos, para a separação de soro ou plasma. O centrifugado obtido foi transferido para tubetes plásticos, identificados e armazenados a -20°C, até o procedimento das análises laboratoriais.

As análises dos parâmetros sanguíneos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®) que utilizam método enzimático colorimétrico de ponto final, sendo a leitura realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 - CELM®).

A concentração de Colesterol HDL (C-HDL) foi determinada em duas etapas. A primeira envolveu preparação previa das amostras, e a segunda a análise propriamente dita.

Para a realização da análise da concentração de C-HDL, 200µl da amostra foram pipetados em tubos Ependorff de 2,5 ml, juntamente com 100µl do reativo único precipitante (CELM-1763) na proporção de 2:1 e misturados manualmente por inversão suave durante 20 segundos. Em seguida as amostras foram deixadas em repouso por 10 minutos. Posteriormente, as amostras preparadas foram centrifugadas durante 15 minutos a 2700g. Nos volumes centrifugados, as lipoproteínas LDL e VLDL foram precipitadas seletivamente pelo ácido fosfotungstico. No sobrenadante, separado pela centrifugação, restaram as moléculas de HDL ligadas ao colesterol. As concentrações de colesterol-LDL e colesterol-VLDL foram determinadas indiretamente, por meio de fórmulas, onde: VLDL colesterol (mg/dl) = (concentração de triglicérides/5) e LDL colesterol (mg/dl) = Colesterol Total - (HDL Colesterol + VLDL Colesterol) (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

4.9 Análises Estatísticas

Foram utilizadas 12 vacas distribuídas em delineamento quadrado latino onde foram utilizados três quadrados latinos 4x4 balanceados e contemporâneos, sendo 4 tratamentos (rações experimentais) e 4 períodos. Os períodos experimentais tiveram duração de 21 dias cada, sendo 14 dias de adaptação e 7 dias de coleta de amostras, perfazendo período experimental de 84 dias.

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de média (Tukey), utilizando-se o programa SAS (SAS, 1999), adotando-se nível de significância de 5%. Os resultados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 1985), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e as variâncias comparadas pelo Teste F. Os dados originais ou transformados, quando este último procedimento era necessário, foram submetidos à análise de variância que separou como fontes de variação os efeitos de tratamento, animal (dentro de quadrado), período e quadrado. Tal análise foi realizada utilizando o procedimento GLM (PROC GLM do SAS). A separação entre as

médias foi realizada através do teste de TUKEY. Utilizou-se um nível de significância de 5% para todos os testes realizados. Falta citar esta tabela no texto e colocar numero nela.

O delineamento experimental foi o quadrado latino (4 vacas x 4 períodos) com repetição simultânea. O modelo estatístico incluiu efeitos de tratamentos, quadrado latino, animal dentro de quadrado latino e período, conforme a equação:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + Q_j + A_k + P_l + E_{ijkl}, \text{ em que:}$$

Y_{ijkl} = é a observação referente ao i-ésimo tratamento, j-ésimo quadrado latino, k-ésimo animal dentro de quadrado latino e l-ésimo período; μ = média geral; T_i = efeito do tratamento i, i = Controle, alta, média e baixa degradabilidades; Q_j = efeito do quadrado latino j, j = 1, 2 e 3; A_k = efeito do animal k dentro de cada quadrado latino, k = 1, 2.; P_l = efeito do período l, l = 1, 2, 3 e 4; E_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Consumo

Os resultados referentes ao consumo diário de nutrientes, de acordo com as rações experimentais estão apresentados na tabela 6. Os tratamentos com fontes nitrogenadas de diferentes degradabilidades não apresentaram efeito sobre o consumo de MS, consumo de MS por peso vivo, matéria orgânica, proteína bruta, carboidratos totais, fibra em detergente neutro com e sem correção para cinzas e proteínas, fibra em detergente neutro por peso vivo, consumo de carboidratos não fibrosos, consumos de nutrientes e energia líquida.

Houve aumento ($P < 0,05$) no consumo de extrato etéreo para a dieta com fontes nitrogenadas de média degradabilidade em relação às demais.

Tabela 6 - Médias e erro padrão da média (EPM) do consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca por peso vivo (CMS/%PV), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro corrigida (CFDN_{cp}), ou não para cinzas e proteína (CFDN), fibra em detergente neutro por peso vivo (CFDN – PV), carboidratos não-fibrosos corrigido (CCNF_{cp}) ou não para cinzas e proteína (CCNF), carboidratos totais (CCT), nutrientes digestíveis totais (CNDT) e energia líquida de lactação (CELL) em função das rações experimentais

Variáveis	Rações experimentais*				Médias	EPM	P
	Controle	Alta	Média	Baixa			
CMS (kg/dia)	18,74	18,63	18,48	18,53	18,60	0,34	0,94
CMS (%PV)	3,26	3,23	3,21	3,21	3,23	0,07	0,87
CMO (kg/dia)	15,11	14,96	15,05	15,29	15,10	0,26	0,80
CPB (kg/dia)	2,67	2,64	2,61	2,68	2,65	0,05	0,58
CEE (kg/dia)	0,38 ^a	0,38 ^a	0,58 ^b	0,40 ^a	0,43	0,02	<0,0001
CCT (kg/dia)	14,24	13,65	13,85	14,10	13,96	0,26	0,28
CFDN (kg/dia)	5,31	5,29	5,26	5,27	5,28	0,11	0,99
CFDN (%PV)	0,89	0,89	0,88	0,89	0,89	0,02	0,98
CFDN_{cp} (kg/dia)	5,10	5,12	5,09	5,11	5,10	0,11	1,00
CCNF (kg/dia)	9,51	9,38	9,16	9,37	9,35	0,18	0,46
CNDT (kg/dia)	13,10	12,97	13,24	13,01	13,08	0,23	0,82
CELL (Mcal/dia)	28,48	28,21	28,98	28,42	28,52	0,53	0,74

*Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR. Médias, seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem ($P > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Ao analisar o resultado entre as rações com as diferentes fontes nitrogenadas, os animais que consumiram a ração com fonte nitrogenada de média degradabilidade

apresentaram maior consumo de EE quando comparado às demais. Este aumento do consumo de extrato etéreo dos animais submetidos a esta dieta pode ser explicado pelo maior teor deste nutriente na ração (Tabela 5).

Segundo Allen (2000) dietas com gorduras podem influenciar no consumo de MS. Isto pode ocorrer devido ao aumento na densidade energética da dieta, redução na digestão ruminal da fibra, indução da ação sobre hormônios do trato digestivo e oxidação de gordura pelo fígado e baixa palatabilidade destas fontes. A dieta à base de grão de soja apresentou teor de 4,14% de extrato etéreo na MS (Tabela 5), valor recomendado por Van Soest (1994) e Palmquist (1995) que citam valores máximos de 7% e 8% na matéria seca.

Cordeiro et al. (2007) ao avaliar inclusões crescentes de farelo de algodão em dietas com volumoso à base de cana-de-açúcar na proporção volumoso: concentrado de 60:40 e 11,5; 13,0; 14,5 e 16,0% de PB, concluíram que dietas com 16% de PB parecem favorecer o consumo de MS total dentre as demais, devido ao aumento da concentração do farelo de algodão das dietas.

Costa; Campos e Valadares Filho (2005) forneceram dietas isoproteicas (14,5%) com 60% de volumoso à base de silagem de milho ou cana-de-açúcar, nas proporções de 60, 50 e 40%. Como concentrado utilizou-se fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, farelo de trigo e matéria mineral. Estes autores observaram maiores consumos de MS com 40% de cana-de-açúcar.

No presente estudo, o consumo de MS (19,81 kg/dia), de proteína bruta (2,94 kg/dia), de fibra em detergente neutro (5,25 kg/dia), de carboidratos totais (15,38 kg/dia), de carboidratos não fibrosos (10,23kg/dia) e os consumos de nutrientes (13,27 kg/dia) foram similares ao encontrado por Costa; Campos e Valadares Filho (2005) em dietas com 40% de volumoso à base de cana-de-açúcar e 14,5% de PB. Voltolini et al. (2008), ao avaliarem três rações com cana-de-açúcar e teores crescentes de proteína metabolizável para vacas produzindo 10 ou 18 kg de leite/dia, também não constatarem efeitos da adição de farelo de soja em substituição à ureia na ração sobre o consumo de MS por meio.

Santos (2006) citou experimentos com substituição parcial ou total de farelo de soja por fontes ricas em PNDR nos quais não houve efeitos no consumo de MS. Além disso, observaram menores passagens de proteína microbiana e aumento da proteína de origem alimentar no intestino. Apesar do consumo de proteína não ter apresentado efeito de tratamentos, estes resultados citados por Santos (2006) podem explicar as semelhantes médias

do consumo de proteína entre as dietas de baixa degradabilidade quando comparado a dieta controle.

Magalhães et al. (2006), ao trabalharem com dietas isoproteicas (15,1% de PB), relação volumoso:concentrado de 60:40 e diferentes substituições de silagem de milho por cana-de-açúcar (zero; 33; 66 e 100%), verificaram que os aumentos dos níveis de substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar reduziram o consumo dos nutrientes, exceto o de lignina e carboidratos não fibrosos que se encontraram em maiores concentrações no volumoso cana-de-açúcar, ao longo das substituições.

Costa; Campos e Valadares Filho (2005) e Cordeiro et al. (2007) trabalharam com dietas à base de cana-de-açúcar na proporção volumoso: concentrado de 60:40 e 40:60 com 16% e 14,5% de PB, respectivamente. Estes autores encontraram valores de CMS (%PV) e CFDN (g/kg do PC) iguais a 3%; 9,8 g/kg e 3,34% e 8,9 g/kg, ao quais foram similares aos observados neste experimento. Foi observado que o consumo de FDN situou-se abaixo da capacidade ótima do consumo de fibra para a máxima produção de leite corrigida, segundo teoria de Mertens (11 a 13 g/kg do PC).

Magalhães et al. (2006) utilizaram três níveis de substituições (zero; 33; 66 e 100%) de silagem de milho por cana-de-açúcar. Os maiores valores para o CMS (%PV) e CFDN (g/kg do PC) foram para as substituições de 33% e 66% que correspondem a 3,47% e 11,5 g/kg, respectivamente. Estes valores estão acima dos relatados em dietas à base exclusivamente de cana-de-açúcar, o que pode resultar em maximização da produção de leite corrigida para 4%, segundo estes mesmos autores. Além disso, concluiu-se neste experimento que devido à redução do consumo de nutrientes e das estimativas da taxa de passagem ruminal de dietas com volumosos cana-de-açúcar, recomendou-se limitar a quantidade a ser substituída em 33,3% da porção volumosa da dieta.

Sousa et al. (2009), utilizaram dietas isoproteicas (15%PB) com relação volumoso: concentrado de 60:40. O objetivo do estudo foi viabilizar o uso de cana-de-açúcar com caroço de algodão em diferentes níveis (0, 7 ou 14% da MS) e compará-las à dieta com volumoso silagem de milho. Estes autores observaram que a inclusão de 7% de caroço de algodão nas dietas com cana-de-açúcar melhora o consumo de MS e nutrientes, sem alterar o desempenho produtivo.

Embora existam estudos sobre o uso da cana-de-açúcar na ração de vacas em lactação, os mecanismos pelos quais fontes nitrogenadas com diferentes degradabilidades podem

influenciar o consumo, ainda não estão devidamente elucidados. Há fortes evidências de que as limitações da cana-de-açúcar dificultam a utilização da proteína da dieta, pois, para isso deve haver um suprimento sincronizado de CNF: PDR, para manter as necessidades dos microrganismos ruminais, e de PNDR, com adequada digestibilidade intestinal, o que permite suprir adequadamente os requerimentos das vacas (BRODERICK, 2003).

5.2 Digestibilidade Aparente Total

Os resultados de digestibilidade aparente total da MS e dos nutrientes podem ser observados na tabela 7. Não houve efeito dos tratamentos sobre a digestibilidade aparente total da MS, MO, extrato etéreo, carboidratos totais, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos e NDT entre as dietas experimentais.

Houve redução ($P<0,05$) da digestibilidade aparente total da PB para a dieta com média degradabilidade proteica em relação às demais. Analisando-se as rações com as diferentes fontes nitrogenadas, os animais submetidos à ração com média degradabilidade apresentaram menor digestibilidade proteica ($P<0,05$) em relação às demais rações experimentais. Segundo Sullivan et al. (2004), este grão caracteriza-se por possuir lenta liberação de gordura no rúmen. Com isso, teoricamente, proporcionaria menor efeito negativo sobre a digestibilidade ruminal dos nutrientes, já que, disponibilizaria os lipídios à adequada capacidade de biohidrogenação pelos microrganismos ruminais.

Além disso, este correto sincronismo entre energia e proteínas acaba parcialmente comprometido quando o substrato proveniente da fermentação de carboidratos estruturais oriundos de forragens como a cana-de-açúcar possui maiores teores de lignina e tamanhos de partículas, o que dificulta ainda mais a digestibilidade da fibra na fermentação e disponibilidade da adequada energia no processo de síntese proteica microbiana (VOLTOLINI et al., 2008).

Tabela 7 – Médias e erro padrão da média (EPM) dos coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE), carboidratos totais (CDCT), fibra em detergente neutro, (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF) e nutrientes digestíveis totais observados (NDTobs), em função das rações experimentais

Variáveis	Rações experimentais*				Médias	EPM	P
	Controle	Alta	Média	Baixa			
CDMS	66,55	66,63	65,65	65,65	66,12	0,62	0,84
CDMO	64,56	65,20	64,38	64,50	63,30	0,78	0,95
CDPB	66,15 ^a	67,57 ^a	60 ^b	66,17 ^a	64,97	0,94	0,003
CDEE	78,01	80,88	72,43	77,93	77,31	1,18	0,08
CDCT	68,49	66,59	68,27	67,38	67,68	0,62	0,55
CDFDN	45,09	44,01	46,87	44,87	45,21	1,31	0,68
CDCNF	83,13	82,88	82,61	81,82	82,61	0,54	0,81
NDT_{OBS}¹	75,13	74,98	74,09	74,98	74,80	0,28	0,34

*Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR. ¹De acordo com as equações do NRC (2001). Médias, seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem (P>0,05) pelo teste de Tukey.

Fatores físicos e fisiológicos que regulam o consumo de alimento interferem na digestibilidade da MS. Baixos valores da digestibilidade (52% a 66%) estão relacionados ao peso corporal (pela capacidade de volumoso), ao resíduo não digerido por unidade de peso corporal por dia (taxa de passagem) e à digestibilidade da MS. Valores superiores da digestibilidade (67% a 80%) são influenciados pelo peso metabólico, produção, consumo e digestibilidade (CONRAD et al., 1964).

Costa; Campos e Valadares Filho (2005) compararam coeficientes de digestibilidade dos nutrientes, utilizando três proporções de cana-de-açúcar (60, 50 e 40%). A digestibilidade dos carboidratos não fibrosos dos animais submetidos a dieta com 40% de inclusão de cana foram inferiores, provavelmente, devido à menor participação do volumoso e maior dos concentrados, principalmente do farelo de algodão.

Magalhães et al. (2006) avaliaram a substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar e não observaram efeitos sobre a digestibilidade da MS, da matéria orgânica e da proteína bruta. As digestibilidades da FDN e EE apresentaram redução acentuada, enquanto que a dos carboidratos totais e carboidratos não fibrosos aumentaram. Estes resultados são devido à maior substituição da silagem de milho pela cana-de-açúcar.

Rangel (2005) avaliou dietas com cana-de-açúcar e farelo de soja ou este mesmo volumoso com outros três níveis de ureia de 0,4; 0,8 e 1,2 %, na base da MN, com relação volumoso: concentrado de 40:60, para vacas leiteiras. O autor não observou efeito na

digestibilidade aparente da MS, MO, PB, EE, FDN e CNF. No entanto, os coeficientes de digestibilidade aparente dos carboidratos totais (CDCT) e dos nutrientes digestíveis totais observados (NDTobs) foram maiores para a dieta contendo farelo de soja em relação à dieta com 0,4% de ureia.

5.3 Fermentação Ruminal

Não houve efeito das rações experimentais sobre o pH ruminal três horas após a alimentação (Tabela 8). Estes resultados são similares aos de Mendonça; Campos e Valadares Filho (2004); Magalhães et al. (2006) e Souza et al. (2009), que justificam este comportamento devido ao uso de rações completas que originam esta uniformidade dos valores de pH. Pereira et al. (1996b) encontraram valores médios de pH de 7,44 para a dieta constituída de cana e ureia, e 6,48 para cana, ureia e concentrado, respectivamente. No entanto, Hoover e Stokes (1991), a faixa ótima de pH situa-se entre 6,7 e 7,1.

A concentração de $N-NH_3$ foi menor ($P<0,05$) para os animais que receberam a ração com média degradabilidade, três horas após o consumo de alimentos, e as demais dietas não diferiram entre si. Estes resultados podem ser explicados pela menor degradação do grão de soja integral, o que leva a uma lenta degradação ruminal e menores valores de $N-NH_3$.

Para Magalhães et al. (2006) concentrações médias ótimas de amônia capaz de garantir boa atividade dos microrganismos ruminais, sem limitar seu crescimento, encontram-se acima de 5 mg/dL de líquido ruminal. No entanto, para Leng e Nolan (1984) estes valores devem se encontrar entre 15 e 20 mg/dL.

A utilização de fontes lipídicas pode reduzir a fermentação ruminal devido à menor concentração de amônia ruminal. Os ácidos graxos insaturados liberados pelos grãos de soja podem diminuir a atividade de bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos. Estes microrganismos necessitam exclusivamente de amônia como fonte de nitrogênio, para isso precisam de esqueletos carbônicos oriundos da fermentação para incorporarem amônia e sintetizarem seus aminoácidos (SANTOS, 2006).

Não houve efeito das fontes nitrogenadas nas rações sobre as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, em porcentagem e proporção molar após três horas da alimentação matinal. Esses resultados indicam que as fontes nitrogenadas com diferentes degradabilidades adicionadas às rações, nas proporções de PDR: PNDR, não influenciaram a fermentação ruminal das vacas deste estudo. Estes resultados podem demonstrar o efeito positivo da utilização do grão de soja integral na dieta de vacas leiteiras, pois não foi observado alterações nos parâmetros de fermentação ruminal. Possivelmente, devido a lenta liberação da gordura presente no grão de soja não superando assim a capacidade de biohidrogenação ruminal pelos microrganismos. Segundo Schauff et al. (1992b) em experimentos com dietas com este grão fornecidas em 16% da MS total, observaram diminuição da razão acetato: propionato ruminal, sem alteração no desempenho animal.

Tabela 8 – Médias e erro padrão da média (EPM) do pH, das concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), proporção, concentração molar e total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, 3 horas após a alimentação, segundo as rações experimentais

Variável	Rações Experimentais*				Médias	EPM	P
	Controle	Alta	Média	Baixa			
pH	6,99	6,94	6,85	6,94	6,93	0,03	0,34
N-NH₃ (mg/dl)	9,51 ^{a, b}	12,17 ^a	7,6 ^b	9,23 ^b	9,63	0,58	0,03
Acético (%)	65,10	65,06	64,24	64,30	64,68	0,32	0,38
Propriônico (%)	21,18	20,93	21,67	21,25	21,26	0,27	0,59
Butírico (%)	13,72	14,01	14,09	14,45	14,07	0,22	0,53
Acético (mM)	45,32	48,10	48,76	45,86	47,01	1,48	0,75
Propriônico(mM)	14,85	15,45	16,60	15,14	15,51	0,56	0,62
Butírico(mM)	9,62	10,44	10,44	10,44	10,24	0,37	0,73
Relação A/P¹	3,10	3,16	2,98	3,05	3,07	0,05	0,33
Total AGCC(mM)	69,79	74,00	75,80	71,44	72,76	2,32	0,74

*Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR. Médias, seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem (P>0,05) pelo teste de Tukey.¹ Relação acético:propriônico

5.4 Produção e Composição do Leite

Não houve efeito das fontes nitrogenadas nas rações sobre a produção de leite - PL (kg/dia), proteína (kg/dia), lactose (kg/dia), e extrato seco total (kg/dia), e nos teores de gordura (%), lactose (%), extrato seco total (%), nitrogênio ureico no soro, ureia no leite,

eficiência produtiva e contagem de células somáticas (Tabela 9). Não houve efeito dos tratamentos sobre as variáveis de peso corporal, mudança de peso corporal, escore de condição corporal e mudança de escore de condição corporal.

Tabela 9 - Médias e erro padrão da média (EPM) da produção diária de leite sem (PL) e com correção para 3,5% de gordura (PLC), eficiência produtiva (EP), teores e produção diária no leite de gordura (GL), teores e produção da proteína bruta (PB), teores e produção de lactose (LA), extrato seco total (EST), ureia no leite (URL), nitrogênio ureico no leite (NUL), contagem de células somáticas (CCS), peso corporal (PC), mudança de peso corporal (MPC), escore de condição corporal (ECC) e mudança de escore de condição corporal (MECC), em função das rações experimentais

VARIÁVEIS	Rações Experimentais*				EPM	Médias	P
	Controle	Alta	Média	Baixa			
PL ¹ (kg/dia)	17,24	17,32	16,15	17,53	0,32	15,35	0,13
PLC (kg/dia)	17,73 ^{a, b}	17,86 ^{a, b}	16,09 ^c	18,42 ^a	0,36	16,07	0,03
EP ² (kg/kg)	0,91	0,97	0,89	1,00	0,03	0,94	0,13
GL ¹ (%)	3,71	3,70	3,53	3,71	0,04	3,78	0,38
GL (kg/dia)	0,63 ^a	0,64 ^a	0,55 ^b	0,66 ^a	0,01	0,58	0,03
PB ¹ (%)	3,47 ^a	3,24 ^b	3,33 ^b	3,28 ^b	0,04	3,33	0,01
PB (kg/dia)	0,57 ^a	0,55 ^{a, b}	0,52 ^b	0,57 ^{a, b}	0,01	0,49	0,07
URL (mg/dl)	14,88	15,42	13,00	14,79	0,51	14,52	0,23
NUL (mg/dl)	6,95	7,20	6,06	6,90	0,24	6,78	0,22
LA ¹ (%)	3,96	4,01	4,06	4,01	0,02	4,02	0,77
LA (kg/dia)	0,69	0,68	0,65	0,69	0,02	0,62	0,34
EST ¹ (%)	12,10	11,93	11,89	11,98	0,06	12,07	0,60
EST (kg/dia)	2,067	2,042	1,9	2,115	0,04	1,84	0,08
CCS ¹ (cel/ml)	2,14 ^{a, b}	2,04 ^b	2,26 ^a	2,16 ^{a, b}	0,03	2,33	0,04
PC (kg)	603,75	605,88	605,17	604,00	11,27	604,70	0,96
MPC	4,17	-2,50	-1,25	-0,96	1,76	-0,14	0,31
ECC	3,13	3,17	3,00	3,13	0,07	3,10	0,37
MECC	0,08	0,00	0,04	0,00	0,03	0,01	0,33

*Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR.

¹Resultados obtidos por meio de método de absorção infravermelho. ²EP= produção de leite (kg/dia)/consumo de MS (kg/dia). Médias, seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem (P>0,05) pelo teste de Tukey.

Entretanto, as variáveis PL corrigida (kg/dia), produção de gordura (kg), teor de proteína (%) e Log de CCS (x1000cel/ml) foram afetadas (P<0,05) pelos tratamentos.

No tratamento com farelo de glúten de milho (2,67% da MS, Tabela 5), baixa degradabilidade, PL corrigida para 3,5% (kg/dia) foi maior. Contrariamente, o tratamento

contendo grão de soja (média degradabilidade) apresentou a menor média, enquanto que os tratamentos controle e alta degradabilidade apresentaram-se similares.

Schroeder (2003) encontrou valores diferenciados com a inclusão de farelo de glúten de milho (FGM) ao trabalhar com dietas isoproteicas (17,2% PB) e isoenergéticas e silagem de milho como volumoso padrão. Estes autores não observaram efeitos da inclusão de FGM sobre os componentes do leite. O mesmo autor determinou que para máxima produtividade leiteira a inclusão de FGM deve ser de no máximo 18,6% da MS.

Silva (2006) avaliaram os efeitos do FGM em substituição do farelo de soja nos níveis de (0; 3,5; 7; 10,5 e 14%) com volumoso à base de capim Tifton (*Cynodon dactylon*), e concluíram que a inclusão do resíduo diminuiu o CMS. No entanto, a digestibilidade dos ingredientes, a produção de leite e o teor de gordura não foram alterados.

Foi observado efeito na produção de gordura (kg), sendo que os animais submetidos ao tratamento de média degradabilidade apresentaram a menor média, e os demais tratamentos experimentais não diferiram entre si. Estes resultados podem ser explicados pela menor % de gordura no leite apresentado pelos animais submetidos à dieta com média degradabilidade.

Para a variável teor de proteína (%), os tratamentos de alta, média e baixa degradabilidades apresentaram médias semelhantes, enquanto que o tratamento controle foi superior aos demais. A relação PDR: PNDR encontrada nesta dieta, segundo NRC (2001), atende aos requerimentos do animal em valores de PNDR e da proteína microbiana, PDR.

Em relação à CCS, os valores dos tratamentos foram considerados normais, sem indicativo para mastite subclínica (<200.000cel/ml).

Cordeiro et al. (2007), avaliaram produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta em dietas com cana-de-açúcar. Estes autores encontraram aumentos de PL corrigida ou não em 3,5% de gordura, NUL e produções de gordura, PB e lactose com o aumento da dos teores de proteína bruta da dieta. No entanto, este aumento na proteína da dieta fez com que a eficiência de utilização de N se reduzisse, principalmente, quando este teor foi de 16%PB. Este último resultado é similar ao de Rius et al. (2010) que cita que o aumento na produção de proteínas do leite ocorre quando há maior energia da dieta, isto é, o fornecimento da proteína dietética deve ser capaz de suportar a elevação dos teores da proteína láctea.

Costa, Campos e Valadares Filho (2005) forneceram dietas isoproteicas (14,5%) contendo diferentes proporções de cana-de-açúcar (60, 50 e 40%) em substituição a silagem de milho, e não observaram diferenças significativas para as variáveis de produção e composição de leite. Sousa et al. (2009) substituiu cana-de-açúcar por caroço de algodão (0, 7 e 14% da matéria seca total), e observou menores produções de leite para a dieta com 0% de inclusão, que pode ser atribuída ao menor consumo de MS, resultando em redução do consumo de nutrientes e fluxo para a glândula mamária em dietas à base de cana-de-açúcar.

No entanto, (RODRIGUES, 1999; MENDONÇA; CAMPOS; VALADARES FILHO, 2004; COSTA; CAMPOS; VALADARES FILHO, 2005) concordaram com o fato de que a relação volumoso: concentrado nas dietas com cana-de-açúcar (50:50) podem encontrar produções de leite similares às observada em dietas a base de silagem de milho com relação volumoso:concentrado de 60:40.

Médias de NUL são similares aos relatados na literatura (BRODERIK; CLAYTON, 1997). Estas mesmas respostas foram encontradas por Aquino et. al. (2009) em experimento com dietas isoenergéticas (1,53 Mcal/kg de EL) e isoproteicas (16% PB), em trabalhos com inclusões de 0,75 ou 1,5% de ureia em substituição ao farelo de soja.

Vilela et. al. (2007) ao utilizar dietas isoenergéticas e isoproteicas com substituição de farelo de soja pela amireia nas proporções de 0%, 33%, 66% e 100% e cana-de-açúcar *ad libitum* não encontraram influência sobre a gordura e sólidos totais do leite, ao contrário dos efeitos ocorridos com a produção, proteína, lactose e ureia do leite.

Não se observou efeito da utilização das fontes nitrogenadas nas rações sobre os teores de nitrogênio não proteico. No entanto, houve tendência ($P=0,08$) deste efeito para a variável caseína (Tabela 10). A inclusão 1,7% de ureia na dieta de alta degradabilidade com fonte proteica à base exclusivamente de farelo de soja apresentou mesma eficiência de utilização do nitrogênio em relação à dieta controle.

Baseando-se nos valores encontrados dos teores de proteína total, na Tabela 10 pode-se observar que as proporções das frações proteicas do leite como nitrogênio não caseinoso, proteína verdadeira e relação caseína: proteína verdadeira foram alteradas ($P<0,05$) pelas fontes nitrogenadas com diferentes degradabilidades em relação a dieta controle.

Baker, Ferguson e Chalupa (1995), ao avaliar os efeitos da concentração, degradabilidade e qualidade da proteína da dieta sobre a concentração proteica do leite verificaram correlação positiva entre o teor de proteína verdadeira do leite e o suprimento de

PDR das dietas. No entanto, Peres (2001) cita que os valores de NUL abaixo de 12 mg/dl e valores acima de 3,2% de proteína do leite indicam adequação em aminoácidos, excesso de carboidratos não estruturais e deficiência de proteína solúvel e degradável.

Tabela 10 - Médias e Erro padrão da média (EPM) dos teores no leite de proteína bruta (PB), nitrogênio não proteico (NNP), nitrogênio não caseinoso (NNC), caseína, proteína verdadeira (PV), relação caseína: proteína verdadeira em função das rações experimentais

VARIÁVEIS ¹	Rações Experimentais*				EPM	Médias	P
	Controle	Alta	Média	Baixa			
PB (%)	3,46 ^a	3,36 ^b	3,34 ^b	3,30 ^b	0,03	3,31	0,01
NNP (%)	0,18	0,19	0,19	0,18	0	0,19	0,68
NNC (%)	1,03 ^a	0,97 ^b	0,97 ^b	0,94 ^b	0,01	1,05	0,003
Caseína (%)	2,44	2,37	2,35	2,36	0,03	2,25	0,08
PV (%)	3,28 ^a	3,16 ^b	3,16 ^b	3,11 ^b	0,03	3,11	0,003
Caseína/ PV	0,74 ^a	0,75 ^b	0,75 ^b	0,76 ^b	0	0,72	0,06

*Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR. Médias, seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem ($P>0,05$) pelo teste de Tukey. ¹Resultados obtidos por meio de método de Kjeldahl.

Portanto, os maiores valores de nitrogênio não caseinoso, proteína verdadeira e relação caseína: proteína verdadeira, encontrados na dieta controle sugerem melhor eficiência microbiana quando as dietas apresentam relação PDR: PNDR correspondente a 66,25% e 33,75 % , respectivamente, com volumoso cana-de-açúcar.

5.5 Parâmetros Metabólicos Sanguíneos

As concentrações plasmáticas de glicose, proteínas totais, albumina e ácidos graxos não esterificados não foram alteradas pelas dietas experimentais (Tabela 11). Entretanto, as vacas que receberam as rações nitrogenadas com alta e média degradabilidades apresentaram maiores ($P<0,05$) concentrações no soro de colesterol total e colesterol-HDL quando comparadas aos animais submetidos à ração controle.

Não houve efeito dos tratamentos sobre a concentração de glicose sanguínea devido à facilidade do ruminante em mantê-las estáveis, principalmente, quando as vacas se encontram no terço médio e final de lactação. Os valores encontrados nas concentrações de albuminas indicam que a ração formulada proporcionou um bom aporte proteico (CONTRERAS, 2000).

O fato dos ácidos graxos não esterificados terem se mantido constantes sob efeito das rações experimentais, indica que não houve mobilização de reservas lipídicas para suprir momentos de déficit energéticos, mesmo porque as vacas se encontravam em terço médio de lactação e foram alimentadas com volumoso cana-de-açúcar. As dietas com fontes nitrogenadas de média degradabilidade foram formuladas à base de grão de soja e devido aos maiores consumos de gorduras nas rações proporcionou aumento do colesterol total e HDL.

A concentração de ureia e nitrogênio ureico no soro foram menores ($P<0,05$) para as vacas que receberam grão de soja na dieta. Essa redução pode ser atribuída à diminuição na digestibilidade proteica das vacas suplementadas com estes grãos quando comparadas com as demais rações experimentais. Segundo Contreras (2000), alterações nas concentrações sanguíneas de ureia estão correlacionadas às quantidades de amônia no rúmen sendo que a utilização desta depende da atividade metabólica dos microorganismos ruminais.

Voltolini et. al. (2008) não observaram efeitos sobre as concentrações de NUL e NUP em dietas com diferentes teores de proteína metabolizável à base de cana-de-açúcar para vacas com 10 ou 18 kg de leite/dia. No entanto, Martinez (2008) observou que dietas com altas inclusões de caroço de algodão (34% da MS) e cana-de-açúcar para vacas em lactação aumentam as concentrações de nitrogênio ureico no plasma. Pode-se concluir que as dietas formuladas à base de grão de soja foram o principal motivo pela alteração dos parâmetros sanguíneos. As dietas, de um modo geral, não apresentaram valores discrepantes entre as rações controle e as fontes nitrogenadas com diferentes degradabilidades.

Tabela 11 - Médias das concentrações sanguíneas de glicose (GLI), albumina (ALB), proteínas totais (PTN), ureia (URE), ureico no soro (NUS), colesterol total (COT), colesterol HDL (C-HDL), e ácido graxo não-esterificado em função das rações experimentais

Variáveis	Rações experimentais*				Médias	EPM	P
	Controle	Alta	Média	Baixa			
GLI (mg/dl)	54,92	54,92	55,00	53,92	54,69	2,42	0,98
ALB (mg/dl)	2,35	2,20	2,29	2,22	2,27	0,05	0,73
PTN (g/dl)	5,67	5,13	5,16	5,34	5,32	0,11	0,41
URE (mg/dl)	28,08 ^a	30,58 ^a	23,91 ^b	29,42 ^a	28,00	0,99	0,05
NUS (mg/dl)	13,12 ^a	14,29 ^a	11,18 ^b	13,75 ^a	13,08	0,46	0,05
COT (mg/dl)	139,08 ^a	139 ^a	185,83 ^b	143,33 ^a	151,81	4,85	<.0001
C-HDL (mg/dl)	35,5 ^a	50,58 ^b	44,75 ^{a,b}	38,33 ^a	42,29	2,07	0,02
AGNE (mmol/l)	2,35	2,20	2,29	2,22	0,30	0,02	0,89

*Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR. Médias, seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem ($P>0,05$) pelo teste de Tukey.

5.6 Síntese de Proteína Microbiana

Não houve efeito dos tratamentos sobre as excreções diárias de creatinina, alantoína, ácido úrico e excreção total de urina. Também não se observaram alterações nas concentrações de alantoína no leite, derivados de purinas totais, porcentagem de alantoína nos derivados de purina, purinas absorvidas, eficiência microbiana, nitrogênio e proteína microbiano para as rações experimentais (Tabela 12). Estes resultados demonstram que as dietas controle, alta, média e baixa degradabilidades não influenciaram a síntese de proteína microbiana, não interferindo assim no fluxo de aminoácidos para o intestino delgado.

Oliveira et al. (2001), em experimento com volumoso: concentrado de 60: 40 de silagem de milho, forneceram níveis crescentes de ureia no concentrado (0; 0,7; 1,4; e 2,1%), correspondentes aos níveis de PB na forma de compostos nitrogenados não proteicos das rações iguais a 2,22; 4,18; 5,96; e 8,09%, respectivamente. Estes autores também não encontraram efeitos das dietas sobre os parâmetros de síntese proteica microbiana.

A excreção média de ácido úrico das dietas experimentais foi menor que o encontrado por Sousa et al. (2009), de 23,59 mmol/dia, e Mendonça et al. (2004), de 15 mmol/dia. De forma semelhante Souza (2009) encontrou valores de alantoína no leite (11,2 mmol/dia), superiores aos encontrados no presente estudo. Já os valores observados para alantoína excretada na urina são próximos aos observados por Sousa et al. (2009), que foi de 216,83 mmol/dia.

Mendonça et al. (2004) encontraram maiores valores de excreções de purina, para cana-de-açúcar com volumoso: concentrado (50:50), semelhantes às obtidas com o fornecimento de silagem de milho. Esses resultados indicam que dietas com cana-de-açúcar com menores proporções de volumoso: concentrado parecem sincronizar melhor a disponibilidade de proteína e energia, a fim de favorecer o ambiente ruminal, e consequentemente o crescimento microbiano. No entanto, menores valores de consumo de MS encontrados em dietas com cana-de-açúcar, em relação à silagem de milho, desfavorecem as quantidades de nutrientes disponíveis no rúmen para o crescimento microbiano e, portanto, não auxiliam no aumento de excreção de purinas e síntese proteica.

A maximização da eficiência na síntese microbiana está relacionada ao sincronismo de energia e proteína, tendo em vista a baixa digestibilidade da fibra da cana-de-açúcar a

maximização do conteúdo energético fermentável pode ficar comprometida. O equilíbrio metabólico entre a energia e proteína, no ambiente ruminal, com a suplementação de fontes nitrogenadas com diferentes degradabilidades, possivelmente não foram preponderantes para explicar uma melhor eficiência na produção de proteína microbiana.

Tabela 12 – Médias e Erro padrão da média (EPM) da concentração de creatinina urinária (CRE), da excreção total de urina (ETU), das concentrações de alantoína na urina (AL-urina) e no leite (AL-leite), do ácido úrico na urina (AU-urina), das purinas totais (PT), da alantoína em porcentagem das purinas totais (AL%), das purinas microbianas absorvidas (Pabs), do nitrogênio microbiano (Nmic), da proteína bruta microbiana (PBmic) e da eficiência de síntese de proteína microbiana (EF), em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais				Médias	EPM	P
	Controle	Alta	Média	Baixa			
CRE (mg/dl)	2,47	2,19	2,27	2,50	2,36	0,10	0,62
ETU (L/dia)	10,96	11,82	11,61	10,57	11,24	0,55	0,77
AL-urina (mmol/dia)	199,14	228,55	239,54	198,66	216,47	14,85	0,58
AL- leite (mmol/dia)	0,65	0,80	0,74	0,87	0,76	0,05	0,40
AU- urina (mmol/dia)	6,49	8,65	6,42	7,82	7,34	0,56	0,34
PT (mmol/dia)	205,69	237,32	245,97	206,54	223,88	15,15	0,59
AL% (mmol/dia)	96,95	95,98	96,95	95,99	96,47	0,26	0,28
Pabs (mmol/dia)	220,22	257,82	268,22	221,26	241,88	18,13	0,59
Nmic (gN/dia)	138,59	162,25	168,82	139,24	152,23	11,41	0,59
PBmic (g/dia)	866,29	1014,13	1055,11	870,40	951,48	71,29	0,59
EF (g PB mic/kg NDT)	66,62	79,60	80,71	67,63	75,54	6,15	0,71

*Controle - 66,25% PDR, 33,75 % PNDR, Alta degradabilidade - 71,33% PDR, 29,29% PNDR, Média degradabilidade - 69,42% PDR, 31,21% PNDR e Baixa degradabilidade - 62,42% PDR, 37,57% PNDR. Médias, seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem ($P>0,05$) pelo teste de Tukey.

6 CONCLUSÕES

A utilização de fontes nitrogenadas com diferentes degradabilidades nas rações de vacas leiteiras, com volumoso cana-de-açúcar, não altera o consumo e o desempenho produtivo, mas altera o teor de proteína bruta e verdadeira do leite. O uso do grão de soja como fonte proteica reduz a digestibilidade aparente total da proteína. Com exceção dos teores de proteína no leite, as fontes nitrogenadas utilizadas na ração controle e as dietas com alta e baixa degradabilidades obtiveram resposta similares.

REFERÊNCIAS

- ALBRO, J. D.; WEBER, D. W.; DELCURTO, T. Comparison of whole, raw soybeans, extruded soybeans, or soybean meal and barley on digestive characteristics and performance of weaned beef steers consuming mature grass hay. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 26-32, 1993.
- ALDRICH, J. M.; MULLER, L. D.; VARGA, G. A.; GRIEL, L. C. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1091-1100, 1993.
- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1624, 2000.
- ALVES, D. Nutrição aminoacídica de bovinos. Revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n. 3, p. 265-271, 2004.
- AQUINO, A. A.; BOTARO, B. G.; IKEDA, F. S.; RODRIGUES, P. H. M.; MARTINS, M. F.; SANTOS, M. V. Efeito de níveis crescentes de ureia na dieta de vacas em lactação sobre produção e composição físico-química do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p.881-887, 2007.
- AQUINO, A. A.; FREITAS JR, J. E.; GANDRA, J. R.; PEREIRA, A. S. C.; RENNÓ, F. P.; SANTOS, M. V. Utilização de nitrogênio não proteico na alimentação de vacas leiteiras: metabolismo, desempenho produtivo e composição do leite. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 4, p. 575-591, 2009.
- AQUINO, A. A.; LIMA, Y. V. R.; BOTARO, B. G.; ALBERTO, C. S. S.; PEIXOTO JR., K. C.; SANTOS, M. V. Effects of dietary urea levels on milk protein fractions of Holstein cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 140, p.191-198, 2008.
- AROEIRA, L. M.; SILVEIRA, M. I.; LIZIEIRE, R. S.; MATOS, L. L.; FIGUEIRA, D. G. Degradabilidade no rúmen e taxa de passagem da cana-de-açúcar mais ureia, do farelo de algodão e do farelo de arroz em novilhos mestiços Europeu x Zebu. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 22, n. 4, p. 552-564, 1993.
- BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 9-21, 2005.

BACH, A.; HUNTINGTON, G.B.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. Nitrogen metabolism of early lactation cows fed diets with two different levels of protein and different amino acid profiles. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 11, p. 2585-2595, 2000.

BAKER, L. D.; FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein feeding schemes for protein of milk to different dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2424-2434, 1995.

BARBANO, D. M.; CLARK, J. L. Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: collaborative study. **Journal AOAC International**, v. 73, p. 849-859, 1990.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que podem ser detectados por meio do leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. 2002.

BATEMAN, H. G.; CLARK, J. H. **Soybean based feeds for dairy cows, Illini Dairy Net, The online resource for the dairy industry**. 2000. Disponível em: www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=327 Illini DairyNet Papers, 2000.. Acesso em: 22 out. 2010.

BELLAVER, C.; GUIDONI, A. L.; BRUM, P. A. R.; ROSA, P. S. Estimativas das exigências de lisina e de energia metabolizável em frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, utilizando-se uma variável multivariada canônica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 71-78, 2002.

BORGES, A. L. C. C.; PEREIRA, L. G. R. Cana-de-açúcar como volumoso para bovinos. In: MARQUES, D. C. (Ed.). **Criação de bovinos**. 7. ed. Belo Horizonte: Consultoria Veterinária e Publicações, 2003. p.221-224.

BRANCO, A. F.; ALCALDE, C. R.; MAIA, F. J.; BRITO, D. A.; GUIMARÃES, K. C.; FERREIRA, R. A. Efeitos da fonte de proteína da dieta sobre a digestão de amido em bovinos. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 953-959, 2001.

BRODERICK, G. A. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1370-1381, 2003.

BRODERICK, G. A.; WALLACE, R. J.; ORSKOV, E. R. Control of rate and extent of protein degradation. In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. (Ed.). **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. New York: Academic Press; p. 541-592, 1991.

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

CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J. T.; VELOSO, R. G.; NUNES, P. M. M. Taxas de digestão das frações proteicas e de carboidratos para as silagens de milho e de capim-elefante, o feno de capim-tifton-85 e o farelo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1573-1580, 2004.

CALIXTO JUNIOR, M.; JOBIM, C. C.; SANTOS, G. T.; BUMBIERIS JÚNIOR, V. H. Constituintes sangüíneos de vacas da raça holandesa alimentadas com silagens de milho ou de capim-elefante. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 429-438, 2010.

CARMO, C. A.; BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P.; ZEOLA, N. M. B. L. Degradabilidade da matéria seca e fibra em detergente neutro da cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6S, p. 2126-2133, 2001.

CARVALHO, N. M.; MULHLBACH, P. R. F. Desempenho de vacas em lactação, recebendogrãos de soja crus ou tostados, na composição da dieta. **Anais... 39º REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA**, 39, 2002 **Anais... Recife**. 2002. 5 p. CD-Rom.

CASALI, A. O. **Procedimentos metodologicos insitu na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. 2006, 47 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CHEEKE, P. R. **Applied Animal Nutrition: Feeds and Feeding**. 3rd ed. New Jersey: Pearson Education Inc., 2005. p. 420-440.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication). In: INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT, 1992, Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute, 1992. 21 p.

CHIZZOTTI, M. L. **Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas**. 2004. 132 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

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, n. 8, p. 2304-2323, 1992.

COALHO, M. R.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; CUNHA, J. A.; LIMA, C. G. Estudo dos protozoários ciliados em bovinos consumindo dietas com diferentes níveis de proteína não degradável no rúmen. **Acta Scientiarum**, v. 25, n. 1, p.2003.

CONTRERAS, P. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L. A. O. (Ed.). **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

CORDEIRO, C. F. A.; PEREIRA, M. L. A.; MENDONÇA, S. S.; ALMEIDA, P. J. P.; AGUIAR, L. V.; FIGUEIREDO, M. P. Consumo e digestibilidade total dos nutrientes e produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta na dieta contendo cana-de-açúcar e concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2118-2126, 2007. Suplemento..

CORRÊA, A. M. V. **Utilização da soja em diferentes formas na alimentação de vacas leiteiras**. 2007. 128 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

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

COSTA, L. T. **Níveis de suplementação concentrada de vacas leiteiras alimentadas com cana-de-açúcar**. 2008. 82 p. –Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade estadual do sudoeste de Bahia-Itapetinga, BA., 2008.

COSTA, M. G.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C. Desempenho produtivo de vacas leiteiras alimentadas com diferentes proporções de cana-de-açúcar e concentrado ou silagem de milho na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2437-2445, 2005. Suplemento.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1993. 454 p.

DEMARCCCHI, J. O uso da cana-de-açúcar como recurso forrageiro. In: SIMPÓSIO DE MANEJO DE PASTAGENS, 18., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001. p. 84.

DIAS, M.; LEÃO, M. I.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; VASCONCELOS, A. M.; SOUZA, S. M.; PAULINO, M. F.; MURÇA, T. B. Técnicas para estimativa da digestibilidade e produção microbiana em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 504-512, 2008.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.

ERFLE, J. D.; SAUER, F. D.; MAHADEVAN, S. Effect of ammonia concentration on activity of enzymes of ammonia assimilation and on synthesis of amino acids by mixed rumen bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v. 60, p. 1064-1072, 1977.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, n. 9, p. 1768-1771, 1961.

FAO. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Animal Production and Health Section**: the technique for estimation of microbial N supply in ruminants from purine derivatives in urine. Vienna, 2003. v. 1. 1 CD-ROM.

FELLNER, V.; BELYA, R. L. Maximizing gluten feed in corn silage diets for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 3, p. 996-1005, 1991.

FERNANDES, A. M.; QUEIROZ, A. C.; LANA, R. P.; PEREIRA, J. C.; CABRAL, L. S.; VITTORI, A.; PEREIRA, E. S. Estimativas de produção de leite por vacas holandesas mestiças segundo o sistema CNCPS, em dietas contendo cana-de-açúcar com diferentes valores nutritivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1778-1785, 2003.

FERNANDES, V. G. Co-produtos da indústria do milho. In: CURSO DE MANEJO E NUTRIÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Descalvado. **Anais...** Descalvado, 2003.

FERREIRA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; COSTA E SILVA, L. F.; NASCIMENTO F. B.; DETMANN, E.; DINIZ VALADARES, R. F. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: estimativa de consumos de concentrado e de silagem de milho por vacas em lactação **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 1574-1580, 2009.

FIGUEIRA, D. G.; AROEIRA, L. J. M.; RODRIGUEZ, N. M.; SAMPAIO, I. B. M.; LOPES, F. C. F.; TORRES, M. P. Dinâmica ruminal e pós ruminal da cana-de-açúcar e do farelo de algodão em bovinos alimentados com farelo de algodão e cana-de-açúcar suplementada com três diferentes níveis de ureia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 45, n. 1, p. 71-80, 1993.

FERREL, C.L.; FREETLY, H.C.; GOETSCH, A.L.; KREIKEMEIER, K.K. The effect of dietary nitrogen and protein on feed intake, nutrient digestibility, and nitrogen flux across the portal-drained viscera and liver of sheep consuming high-concentrate diet ad libitum. **Journal of Animal Science**, Clay Center, v.79, p.1322-1328, 2001.

FIRKINS, J. L.; BERGER, L. L.; FAHEY JUNIOR, G. C. Evaluation of wet and dry distillers grains and dry corn gluten feeds for ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 60, n. 3, p. 847-860, 1985.

FRASER, C. M. **Manual merck de veterinária**. 6. ed. São Paulo: Roca, 1991. 2169 p.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. L.; FREDRICKSON, D. L. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. 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.

GREEN, D. A.; STOCK, R. A.; GOEDEKEN, F. K.; KLOPFENSTEIN, T. J. Energy value of corn wet milling by-product feeds for finishing ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 65, n. 6, p. 1655-1666, 1987.

HALL, M. B. Making nutritional sense of nonstructural carbohydrate. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9., 1998, Gainesville, FL. **Proceedings...** Gainesville: Florida University Press, 1998. p. 108-121.

HARRIS, J. R. B., Usando os valores de nitrogênio ureico no leite (NUL) e nitrogênio ureico sanguíneo (BUN). **Inf Milk**, v. 1, p. 1-4, 1997.

HOF, G.; VERVOORN, M. D.; LENAERS, P. J.; TAMMINGA, S. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 3333-3340, 1997.

HOJMAN, D. Relationships between milk urea and production, nutrition and fertility traits in Israeli Dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1001-1011, 2004.

HOJMAN, D.; GIPS, M.; EZRA, E. Association between live body weight and milk urea concentration in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 580-584, 2005.

HOOVER, W. H.; STOKES, S. R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3630-3644, 1991.

HRISTOV, A. N.; ETTER, R. P.; ROPP, J. K.; GRANDEEN, K. L. Effect of dietary crude protein level and degradability on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 3219-3229, 2004.

IBGE. **Produção agrícola municipal 2009**. Rio de Janeiro: IBGE, 2009. v. 36.

IMAIZUMI, H. **Avaliação de diferentes fontes e teores de proteína degradável no rúmen sobre o desempenho e parâmetros ruminais e sanguíneos de vacas holandesas em final de lactação.** 2000 69 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Piracicaba, SP, 2000.

IMAIZUMI, H.; SANTOS, F. A. P.; PIRES, A. V.; JUCHEM, S. O. Fontes proteicas e de amido com diferentes degradabilidades ruminais para alimentar vacas leiteiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1413-1420, 2006.

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

ISHLER, V.; VARGA, G. **Soybeans and soybean byproducts for dairy cattle.**: Pennsylvania: The Pennsylvania State University, 2000. p. 1–12. Publication No. 00-3; College of Agricultural Sciences, Cooperative Extension, Department of Dairy and Animal Science.

KAMALAK, A.; CANBOLAT, O.; GÜRBÜZ, Y.; ÖZAY, O. Protected Protein and Amino Acids in Ruminant Nutrition. **Journal of Science and Engineering**, v. 8, n. 2, 2005.

KITESSA, S.; FLINN, P. C.; IRISH, G. G. Comparison of methods used to predict the in vivo digestibility of feeds in ruminants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50 n. 5, p. 825-841, 1999.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes.** Santa Maria: UFSM, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. **Princípios da bioquímica.** 3. ed. Barcelona: Saevier, 2005.

LENG, R. A.; NOLAN, J. V. Nitrogen metabolism in the rumen **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 1072-1089, 1984.

LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M. Indirect and direct determination of the casein content of milk by kjeldahl nitrogen analysis: collaborative study. **Journal AOAC International**, v. 81, p. 763-774, 1998.

MACKIE, R. J.; WHITE, B. A. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: potential impact on nutrient output. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 2971-2995, 1990.

MAGALHÃES, A. L. R.; CAMPOS, J. M. S.; CABRAL, L. S.; MELLO, R.; FREITAS, J. A.; TORRES, R. A.; VALADARES FILHO, S. C.; ASSIS, A. J. 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, n. 2, p. 591-599, 2006.

MAGALHÃES, A.L.R.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; TORRES, R.A.; NETO, J. M.; ASSIS, A. J. Cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho em dietas para vacas em lactação: Desempenho e Viabilidade Econômica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1292-1302, 2004.

MARAIS, J.P. Use of markers. In: D'MELLO, J.P.F. (Ed.) **Farm animal metabolism and nutrition**: critical reviews. Wallingford: CAB International, 2000. p.255-277.

MARTINEZ, J. S. **Avaliação de co-produtos na alimentação de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais durante a estação chuvosa e alimentadas no cocho durante a estação de seca**. 2008. 351 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

MCCARTHY JR., R. D.; KLUSMEYER, T. H.; VICINI, J. L.; CLARK, J. H.; NELSON, D. R. Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 8, p. 2002-2016, 1989.

MENDONÇA, S. S.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C. Consumo, digestibilidade aparente, produção, composição do leite e variáveis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 2, p. 481-492, 2004.

MENDONÇA, S. S.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; SOARES, C. A.; LANA, R. P.; QUEIROZ, A. C.; ASSIS, A. J. ; PEREIRA, M. L. A. Comportamento Ingestivo de Vacas Leiteiras Alimentadas com Dietas à Base de Cana-de-Açúcar ou Silagem de Milho **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 723-728, 2004.

MENEGHETTI, C. C.; DOMINGUES, J. L. Características nutricionais e uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 5, n. 2, p. 512-536, 2008.

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

MEYER, P. M.; MACHADO, P. F.; COLDEBELLA, A.; CASSOLI, L. D.; COELHO, K. O.; MAZZA RODRIGUES, P. H. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio ureico no

leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1114-1121, 2006. Suplemento.

MOREIRA, A. L.; PEREIRA, O. G.; GARCIA, R. Produção de leite, consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes, pH e concentração de amônia ruminal em vacas lactantes recebendo rações contendo silagem de milho e fenos de alfafa e de capim coastcross. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 1089-1098, 2001. Suplemento..

MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T. C.; LUIMES, P. H. Effects of rumen undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2421-2429, 1998.

NCR. NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Ruminant nitrogen usage**. Washington: National Academy Press, 1985, 138 p.

NCR. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 6. ed. Washington, DC: National Academy Press, 1989. 159 p.

NCR. NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.

NEIVA, R. S. **Produção de bovinos leiteiros**. 1. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1998. 534 p.

NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2051-2069, 1988.

NOLAN, J. V. Nitrogen kinetics In: FORBES, F. M.; FRANCE, F. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. FALTA LOCAL: CAB Interantional, 1993. p. 123-145.

NOUSIAINEN, J.; SHINGFIELD, K. J.; HUHTANEN P. Evaluation of milk urea nitrogen as diagnostic of protein feeding. **Journal of Dairy Science**, v.87, p. 386-98, 2004.

OBEID, J. A.; PEREIRA, O. G.; PEREIRA, D. H.; VALADARES FILHO, S. C.; CARVALHO, I. P. C.; MARTINS, J. M. Consumo e digestibilidades total e parcial de componentes nutritivos em bovinos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 921-927, 2007.

OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; FILHO, S. C. V.; CECON, P. R.; RENNÓ, L. N.; QUEIROZ, A. C.; CHIZZOTTI, M. L. 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. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 243-250, 2001.

ØRSKOV, E. R. **Protein nutrition in ruminants**. San Diego: Academic Press, 1992. 175 p.

OWENS, F. N.; ZINN, R. Protein Metabolism of Ruminant Animals. In: CHURCH, D. C. (Ed.). **The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1988. chap. 12, p. 227-249.

PAIVA, V. R. **Níveis de proteína bruta em dietas para vacas leiteiras da raça holandesa em confinamento**. 2009. 42 p. Dissertação (mestrado em zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

PALMQUIST, D. L. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Eds.) **Nutrição de bovinos**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1995. p. 321-338.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de Lipídeos. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 287-310.

PATE, F. M. Nutritive value of sugar cane at different stages of maturity. **Tropical Animal Production**, Santo Domingo, v. 2, p. 108-112, 1977.

PEDROSO, A. M.; CARVALHO, M. P. Polpa cítrica e farelo de glúten de milho. In: PEDROSO, A. M.; **Treinamento on line**: Subprodutos para ruminantes: estratégias para reduzir o custo de alimentação. Piracicaba: AgriPoint; 2006. v. 2, p. 1-35.

PEREIRA, O. G., S. C. VALADARES FILHO, R. GARCIA, K. G. RIBEIRO, A. C. DE QUEIROZ. Degradabilidade in vivo e in situ de nutrientes e eficiência de síntese de proteína microbiana em bovinos, alimentados com cana de açúcar sob diferentes formas. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.25, n. 4, p. 763, 1996b.

PEREIRA, A. P.; SALES PEREIRA, E. ; MIZUBUTI, I. Y. Características nutricionais e formas de utilização da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 73-84, 2003.

PEREIRA, E. S.; QUEIROZ, A. C.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C.; ARRUDA, A. M. V.; CABRAL, L. S.; MIRANDA, L. F.; FERNANDES, A. M. Dinâmica dos nutrientes no trato gastrointestinal de novilhos holandeses alimentados com dietas à base de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1516-1524, 2003.

PEREIRA, E. S.; ARRUDA, A. M. V.; MIRANDA, L. F.; MIZUBUTI, I. Y.; MUNIZ, E. B.; PINTO, A. P. Importância da inter-relação carboidrato e proteína em dietas de ruminantes. **Ciências Agrárias**, v. 26, n. 1, p. 125-134, 2005.

PERES, J. R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F.D; DURR, J. W.; FONTANELI, R. S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. p. 30-45.

PINA, D. S.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; CAMPOS, J. M. S.; DETMANN, E. ; MARCONDES, M. I.; TEIXEIRA, R. M. A. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1543-1551, 2006.

PIRES, A. V.; SUSIN, I.; SANTOS, F. P. A.; MENDES, C. Q.; OLIVEIRA JUNIOR, R. C.; FERNANDES, J. J. R.; SIMAS, J. M. C. Efeito de fontes e formas de processamento do amido sobre o desempenho e o metabolismo do nitrogênio em vacas Holandesas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 8, p. 1456-1462, 2008.

PRESTON, T. R.; LENG, R. A. Sugar cane as cattle feed. Part I. Nutritional constraints and perspectives. **World Animal Review**, v. 27, p. 7-12, 1978a.

QUEIROZ, O. C. M.; NUSSIO, L. G.; SCHIMIDT, P.; RIBEIRO, J. L.; SANTOS, M. C.; ZOPPOLATTO, M. Silagem de cana-de-açúcar comparada a fontes tradicionais de volumosos suplementares no desempenho de vacas de alta produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 358-365, 2008.

RANGEL, A. H. N. **Cana-de-açúcar na alimentação de vacas e novilhas leiteiras em crescimento** 2005. 22 p. Tese (doutorado em zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

REECE, O. W. **Fisiologia dos Animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1996, 351 p.

RENNÓ, L. N.; VALADARES, R. F. D.; LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; CECON, P. R.; DIAS, H. L. C.; COSTA, M. A. L.; OLIVEIRA, R. V. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1223-1234, 2000.

RIUS, A. G.; MCGILLIARD, M. L.; UMBERGER, C. A.; HANIGAN, M. D. Interactions of energy and predicted metabolizable protein in determining nitrogen efficiency in the lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2034–2043, 2010.

ROBINSON, P. H.; McQUEEN, R. E.; BURGESS, P. L. Influence of rumen undegradable protein levels on feed intake and milk production of late lactation of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 5, p. 1623-1631, 1991.

RODRIGUES, A. A. Potencial e limitações de dietas a base de cana-de-açúcar e ureia 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.

RODRIGUEZ, N. M.; FIGUEIRA, D. G.; AROEIRA, L. J. M.; SAMPAIO, I. B. M.; GRAÇA, D. S. Efeito do nível de ureia sobre a digestibilidade aparente e o balanço de nitrogênio em bovinos alimentados com cana-de-açúcar e farelo de algodão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 45, n. 1, p. 59-70, 1993.

RUSSELL, J. B.; HESPELL, R. B. Microbial rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 64, p. 1153-1161. 1981.

RUSSELL, J. B.; ONODERA, R.; HINO, T. Ruminant protein fermentation: News perspectives on previous contradictions. In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. (Ed.). **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. New York, Academic Press, 1991. p. 681-697.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 3551-3561, 1992.

SAMPAIO, A. A. M.; OLIVEIRA, M. S.; TOSI, H. et al. Utilização da soja grão e do farelo de soja na terminação de bovinos castrados e inteiros em confinamento. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 37., 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1995. p. 301-303.

SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In: **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 538-601.

SANTOS, F. A. P. **Nutrição Proteica de Bovinos**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2005. v. 1 (Apostilas do Centro de Treinamento do Depto. Zootecnia).

SANTOS, F. A. P.; HUBER, J. T.; THEURER, C. B. Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 1, p. 215-220, 1998.

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

SANTOS, F. P.; HUBER, J. T. **Quality of bypass protein fed to high-producing cow is important.** Feedstuffs, August 12, p. 12-15. 1996.

SANTOS, G. T.; ZAMBOM, M. A.; ALCALDE, C. R.; MODESTO, E. C.; GONÇALVES, G. D.; FAUSTINO, J. O.; SILVA, K. T.; RAMOS, C. E. C. O. Degradabilidade in situ da matéria seca, matéria orgânica e energia bruta da casca do grão de soja moída ou peletizada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002.

SARMENTO, P.; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V.; NASCIMENTO, A. S. Grãos de soja Como Fonte de urease e amonização do bagaço de cana-de-Açúcar com ureia. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 2, p. 223-227, 2001.

SCHAUFF, D. J.; ELLIOIT, J. P.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing whole soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1923-1935, 1992b.

SCHROEDER, J. W. Optmizing the level of wet corn gluten feed in the diet of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 3, p. 844-851, 2003.

SCHWABS, C. G.; ORDWAY, R. S. Balancing diets for amino acids: Implications on production efficiency and feed costs. **Proc. Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop** Grantville, PA (2004), p. 1-16.

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

SILVA, I. J.; FONTES, D. O.; RODRIGUEZ, N. M.; MARINHO, P. C.; SILVA, F. O.; AROUCA, C. L. C.; SILVA, F. C. O. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 207-213, 2004.

SILVA, J. F. C. Ureia como aditivo para alimentos volumosos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS. UREIA PARA RUMINANTES, 2., 1984, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1984. p. 80-118.

SILVA, S. M. J. M. **Níveis de inclusão do resíduo da indústria do milho (mazoferm) em substituição ao farelo de soja para vacas em lactação.** 2006. 33 p. Dissertação (mestrado em zootecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2006.

SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRUN, A.; DEVORIN, A.; TABORI, K. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2463-2472, 1992.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. 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.

SNIFFEN, C. J.; ROBINSON, P. H. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 425-441, 1987.

SOUSA, D. P.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C.; LANA, R. P.; SEDIYAMA, C. A. Z.; MENDES NETO, J. Comportamento ingestivo, consumo e digestibilidade de nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com silagem de milho ou cana-de-açúcar com caroço de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 10, p. 2053-2062, 2009.

SOUSA, D. P.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DINIZ VALADARES, R. F.; SEDIYAMA, C. A. Z.; CRUZ, J. C. C. Parâmetros fermentativos, produção de proteína microbiana, concentrações de ureia no leite e no plasma e balanço de nitrogênio de vacas alimentadas com silagem de milho ou cana-de-açúcar com caroço de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 10, p. 2063-2071, 2009.

SULLIVAN, H. M.; BERNARD, J. K.; AMOS, H. E.; JENKINS, T. C. Performance of lactating dairy cows fed whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids in the oil. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 665-671, 2004.

TAMMINGA, S. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 345-357, 1992.

TAMMINGA, S. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 49, p. 1615-1630, 1979.

VALADARES FILHO, S. C.; CABRAL, S. C. Aplicação dos princípios de nutrição de ruminantes em regiões tropicais. REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA, 39., Recife. **Anais...** Recife: CD-ROM, 2002.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Eds.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 151-179.

VALADARES FILHO, S. C.; ROCHA JR., V. R.; CAPPELLE, E. R. Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 297p.

VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. Recentes avanços em proteína na nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOCULTURA DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: UFL, 2001. p. 229-247.

VALADARES FILHO, S. Exigências nutricionais de gado de leite. In: **Anais** do Simpósio Mineiro de Nutrição de Gado de Leite; 2002, Belo Horizonte. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, UFMG, 2002.

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

VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; SAMPAIO, I. B. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos 4. Concentrações de ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p. 1270-1278, 1997.

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

VAN SOEST, P. J.; MASON, V. C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 45-53, 1991.

VASCONCELOS, A. M.; LEÃO, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; DINIZ VALADARES, R. F.; DIAS, M.; MORAIS, D. A. E. F. **Parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com soja e seus subprodutos**. **R. Bras. Zootec**, v. 39, n. 2, p. 425-433, 2010.

VILELA, F. G.; TEIXEIRA, J. C.; PÉREZ, J. R. O.; PAIVA, P. C. A.; MUNIZ, J. A.; REIS, S. T. Efeitos da substituição do farelo de soja pela amireia 150S no consumo, produção e composição do leite. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1512-1518, 2007.

VILELA, F. G.; TEIXEIRA, J. C.; REIS, S. T. Efeitos da substituição do farelo de soja pela amireia 150S nos parâmetros sanguíneos, consumo, produção e composição do leite de vacas Girolanda. **Revista Ceres**, v. 52, n. 300, p. 275-291, 2005.

VOLTOLINI, T. V.; SANTOS, F. A. P.; MARTINEZ, J. C.; BITTAR, C. M. M.; IMAIZUMI, H.; CORTINHAS, C. S. Diferentes teores de proteína metabolizável em rações com cana-de-açúcar para vacas em lactação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 2, p. 309-318, 2008.

WEISS, W. P.; CONRAD, H. R.; PIERRE, N. R. S. T. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science Technology**, v. 39, p. 95-110, 1992.

WESTWOOD, C. T.; LEAN, I. J.; KELLAWAY, R. C. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: A quantitative review. Part 1. Dietary protein sources and metabolism. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 46, p. 87-96, 1998.

WILDMAN, O. E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

YOUSSEF, F. G. The utilization of whole sugar cane by beef cattle and sheep. **World Review of Animal Production**, v. 23, n. 1, p. 33-36, 1987.

ZEOULA, L. M.; MICHELAN, A. C.; FREGADOLLI, F. L.; DAMASCENO, J. C.; PRADO, I. N.; FRIDRICH, D.; MORAIS, R. G. Combinações de fontes de nitrogênio e amido de alta e baixa degradabilidade ruminal avaliadas pela técnica in situ. **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 325-332, 1998.