Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Suplementação de vacas HPB e vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagem tropical com o éster isopropílico do análogo de metionina (HMBi)

Leandro Ferreira Greco

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2008

Leandro Ferreira Greco
Médico Veterinário

Suplementação de vacas HPB e vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagem tropical com o éster isopropílico do análogo de metionina (HMBi)

Orientador:
Prof. Dr. **FLÁVIO AUGUSTO PORTELA SANTOS**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Greco, Leandro Ferreira
Suplementação de vacas HPB e vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagem tropical com o éster isopropílico do análogo de metionina (HMBi) / Leandro Ferreira Greco. - - Piracicaba, 2008.
80 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Aminoácidos 2. Cruzamento animal 3. Gado holandês 4. Gado Jersey 5. Leite – Produção 6. Suplementos concentrados para animais 7. Vacas I. Título

CDD 636.214
G791s

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Ao meu pai:
Ivanderlei Greco (in memorian)
Por sonhar comigo e que infelizmente não está tendo a oportunidade de vê-lo realizado, em vida.

À minha mãe:
Marlene Fátima Ferreira Greco
Por estar sempre presente em minha vida, e por fazer TUDO o que pode em benefício dos filhos.

DEDICO

Aos meus irmãos:
Frederico Augusto Greco
Ivanderlei Greco Júnior
Pelo companheirismo e amizade de toda uma vida.

À minha sobrinha e afilhada
Júlia da Silva Greco
Por ter trazido alegria e felicidade às nossas vidas, chegando em um momento em que muito precisávamos.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por iluminar meus caminhos e as minhas escolhas. Permitindo sempre que eu encontre soluções para meus problemas, afago para minhas angústias e alegria para minhas tristezas.

Ao Prof. Flávio Augusto Portela Santos por esses dois anos de agradável convivência, pela sua disponibilidade, ensinamentos transmitidos e pela oportunidade.

Ao Dr. Marco Antônio Penati por toda sua colaboração durante a execução da fase experimental e ensinamentos.

Aos funcionários do laboratório de bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP. Em especial à Dra. Carla Maris Machado Bittar por toda sua paciência, pela convivência, amizade e colaboração.

Aos amigos Alex Moreira (Tiburço) e José Tiago das Neves Neto que foram fundamentais na condução do experimento, estando sempre dispostos as 4:30 da manhã. E fizeram dos exaustivos dias de trabalho mais alegres e divertidos.

Ao Prof. José Eduardo Portela Santos pela indicação, amizade e confiança.

Aos amigos de república Clayton Mendes (Cirilo), Daniel Manfredini (Q-dureza), Diego Galvani (Little), Fábio Entelman (Civil) e Teodoro Martins (Mineiiiro) por terem me recebido de braços abertos, contribuindo para que esses dois anos sejam eternamente lembrados. Pelas ajudas mútuas e longas conversas e trocas de conhecimentos.

Aos amigos Arlindo Pacheco Júnior, Camila Gomes, Diogo Fleury (K-Bomba), Jakeline Romero, Junio Martinez, Luiz Roberto Dell'Agostinho (Conçolo), Mariana Andreucci

(Relpi), Mirella Moscardini (Dodói), Rafael Vivian, Rafaela Carareto (Sakudida) por estarem sempre dispostos a ajudar, pelo companheirismo e agradáveis momentos.

Aos professores do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, em especial: Prof. Wilson Mattos, Profa. Ivanete Susin, Prof. Luiz Gustavo Nussio por estarem sempre dispostos a ajudar e a transmitir seus conhecimentos.

Ao Prof. Gerson Mourão Barreto por toda sua ajuda com as análises estatísticas.

Ao Dr. Alexandre Pedroso por toda sua colaboração na revisão deste trabalho.

Aos estagiários do Clube de Práticas Zootécnicas (CPZ) Graziela (Muamba), André (Transgênico), Zigomar, Carolina (Trono), Ricardo (Adúltero), Flávia (3-B), Rafael (Karkaça) , Fábio (Poste), André (Sem-prega), Paulo (Prudence), Tatiane (A-z-da), por serem sempre solícitos.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP Creide Ely Martins, Samuel Prudenciano, Giovana Lara e Laureano Alves da Silva.

Aos funcionários do Centro de Treinamento de Recursos Humanos do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP Francisco (Neco), Valdeci (Tim) e Rafael Lorena.

Aos professores do Departamento de Produção Animal da Universidade Federal de Goiás João Teodoro Pádua, Maria Lúcia Gambarini Meirinhos e Milton Luis Moreira Lima pelo incentivo, amizade e conselhos.

Aos amigos Ana Paula Sousa, Gustavo Feliciano, Guilherme Seleent, Natali Almeida, Cecília Mendonça, Ana Paula Santos e Gabriel Bordin que apesar da distância estão sempre dispostos a ajudar, a ouvir sempre com alguma palavra de afago e esperança.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela bolsa de estudos a mim concedida e pelo financiamento do projeto.

À empresa ADISSEO, na pessoa de seu Gerente de Desenvolvimento Técnico Márcio Ceccantini por todo apoio.

A todos vocês meu sincero
MUITO OBRIGADO!!!!

"A cada dia que vivo, mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca e que, esquivando-nos do sofrimento, perdemos também a felicidade."

Carlos Drummond de Andrade

"Senhor, fazei-me instrumento de vossa paz.
Onde houver ódio, que eu leve o amor;
Onde houver ofensa, que eu leve o perdão;
Onde houver discórdia, que eu leve a união;
Onde houver dúvida, que eu leve a fé;
Onde houver erro, que eu leve a verdade;
Onde houver desespero, que eu leve a esperança;
Onde houver tristeza, que eu leve a alegria;
Onde houver trevas, que eu leve a luz.
Ó Mestre, fazei que eu procure mais:
Consolar, que ser consolado;
Compreender, que ser compreendido;
Amar, que ser amado.
Pois, é dando que se recebe,
É perdoando que se é perdoado,
E é morrendo que se vive para a vida eterna."

Oração de São Francisco de Assis

SUMÁRIO

RESUMO.....10

ABSTRACT 11

LISTA DE TABELAS 12

1 INTRODUÇÃO 14

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17

2.1 Produção de leite em pastagem tropical 17

2.2 Aminoácidos para vacas leiteiras 21

2.3 Cruzamentos para produção de leite.....33

3 MATERIAL E MÉTDOS.....35

3.1 Local, clima e instalações.....35

3.2 Período experimental 36

3.3 Animais experimentais 36

3.4 Tratamentos experimentais 36

3.5 Manejo dos animais e da pastagem 38

3.6 Controle leiteiro e amostragem 39

3.7 Determinação do escore de condição corporal 40

3.8 Determinação das características quantitativas do dossel forrageiro.....41

3.9 Determinação das características qualitativas do dossel forrageiro.....41

3.10 Amostragem dos ingredientes dos concentrados.....42

3.11 Determinação da composição química dos alimentos.....42

3.12 Delineamento experimental e análises estatísticas 43

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....45

4.1 Características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro 45

4.2 Produção e composição de leite 48

4.2.1 Produção de leite..... 48

4.2.2 Teor de gordura..... 52

4.2.3 Teor de proteína..... 53

4.2.4 Teor de lactose..... 54

4.2.5 Teor de nitrogênio uréico no leite 55

4.2.6 Contagem de células somáticas..... 58

4.2.7 Desempenho de diferentes grupos raciais 59

4.2.8 Simulações para estimar o consumo de forragem e fluxo de AA no intestino..... 60

5 CONCLUSÕES 62

REFERÊNCIAS..... 63

RESUMO

Suplementação de vacas HPB e vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagem tropical com o éster isopropílico do análogo de metionina (HMBi)

No presente experimento, foi testada a inclusão do éster isopropílico do análogo de metionina (HMBi) no concentrado de vacas Holandesas (HPB) e vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagens de capim Elefante, com o objetivo de atingir relação entre lisina e metionina de 3:1 na proteína metabolizável. As variáveis avaliadas foram a produção e composição de leite. A massa de forragem e as composições nutricional e morfológica da pastagem também foram avaliadas. Foram utilizadas 16 vacas HPB e 12 vacas ½ HPB ½ Jersey, com aproximadamente 150 dias em lactação no início do período experimental. A pastagem de capim Elefante foi manejada em sistema rotacionado com dois dias de ocupação e período de descanso variável, determinado pela altura do dossel de 1m para a entrada dos animais no piquete. A pastagem foi adubada com 80 kg de N por ciclo de pastejo. As vacas experimentais faziam o pastejo no primeiro dia de ocupação e animais extras do rebanho realizavam o repasse no segundo dia de ocupação de cada piquete, garantindo que o resíduo pós pastejo ficasse em torno de 40 cm. A pastagem continha em média 22% de PB, 66% de FDN e 71,5% de DIVMS. O concentrado foi fornecido individualmente, na dose média de 6,6 kg de MN por vaca/dia com base na relação 1 kg de concentrado para cada 3 kg de leite, estabelecida no início do período experimental. O concentrado era idêntico entre os tratamentos, com exceção da inclusão ou não do éster análogo da metionina (HMBi). O delineamento experimental utilizado foi em *crossover* (2x2), dois tratamentos e dois períodos. Exceto os dados de contagem de células somáticas, os dados foram analisados pelo PROC MIXED (SAS® versão 9.1.3, 2003). Para os dados de células somáticas foi utilizada uma distribuição de Poisson, sendo analisados sob abordagem de modelos lineares generalizados. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para produção de leite (16,20 x 16,49), produção de leite corrigido para 3,50% de gordura (16,34 x 16,61), concentração de gordura no leite (3,57 x 3,57%) e concentração protéica no leite (3,12 x 3,13%), respectivamente para as vacas do grupo controle e as que receberam HMBi. Vacas ½ HPB ½ Jersey, apesar do menor peso corporal e menor consumo de concentrado, produziram leite com maior teor protéico que vacas HPB, e produziram a mesma quantidade de gordura e de proteína láctea.

Palavras-chave: Aminoácido; HMBi; Cruzamento; Metionina; Produção de leite

ABSTRACT

Supplementation of BWH cows and ½ BWH ½ Jersey cows kept in tropical pasture with the isopropyl ester of methionine analog (HMBi)

In this trial, was tested the inclusion of isopropyl ester of methionine analogue (HMBi) in the concentrate of BWH cows and ½ BWH ½ Jersey cows kept in pastures of Elephant grass, with the goal of achieving lysine: methionine ratio of 3:1 in metabolizable protein. Variables analyzed were milk production and composition. The forage mass and the nutritional composition and morphology of the pasture were also evaluated. 16 Holstein cows and 12 ½ WBH ½ Jersey cows, with approximately 150 days in milk at the beginning of the trial period were used. The Elephant grass pasture was managed by rotational system with two days of occupation and variable rest period, determined by the sward height of 1m at the entry of animals in each paddock. The pasture was fertilized with 80 kg N per grazing cycle. The experimental cows were grazed in the first occupation day and extra animals of the herd grazed on the second occupation day of each paddock, ensuring the post grazing residue to be around 40 cm. The pasture contained on average 22% of CP, 66% of NDF and 71.5% of IVDDM. The concentrate was provided individually, the average dose of 6.6 kilograms of MN per cow per day, based on 1 kg of concentrate for every 3 kg of milk, established at the beginning of the trial period. The concentrate was similar among treatments, except for the inclusion or not of methionine ester analog (HMBi). The experimental design was a crossover (2x2), two treatments and two periods. Except the somatic cell count, the data were analyzed by the PROC MIXED (SAS ® version 9.1.3, 2003). For SCC data was used a Poisson distribution, and examined under approach of generalized linear models. There were no statistically significant differences in milk production (16.20 x 16.49), 3,50% fat corrected milk production (16.34 x 16.61), milk fat concentration (3.57 x 3.57%) and milk protein concentration (3.12 x 3.13%) respectively for cows from the control group and those receiving HMBi. Cows ½ BWH ½ Jersey, despite the lower body weight and lower concentrate intake, produced milk with higher protein content than cows BWH, and produced the same amount of milk fat and protein.

Keywords: Amino Acid; HMBi; Crossbreeding; Methionine; Milk production

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Agrupamento dos aminoácidos gliconeogênicos de acordo com o local de entrada no Ciclo de Krebs..... 24

Tabela 2 - Comparação dos perfis de AAE do leite e tecido animal com os principais ingredientes utilizados nas rações de vacas leiteiras no Brasil..... 29

Tabela 3 - Resumo dos dados de desempenho lactacional de vacas leiteiras alimentadas com HMBi 33

Tabela 4 - Dados climáticos do município de Piracicaba nos meses de Janeiro e Fevereiro de 2007..... 35

Tabela 5 - Caracterização das vacas no início do experimento..... 36

Tabela 6 - Proporção dos ingredientes do concentrado (% MS)..... 38

Tabela 7 - Composição bromatológica dos concentrados experimentais e seus respectivos ingredientes 38

Tabela 8 - Características quantitativas do dossel forrageiro pré-pastejo..... 45

Tabela 9 - Composição botânica do dossel forrageiro..... 46

Tabela 10 - Composição bromatológica das amostras de pasto simulado 48

Tabela 11 - Produção e composição de leite de vacas leiteiras, mantidas em pasto tropical de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameroon), suplementadas ou não com HMBi 49

Tabela 12 - Produção e composição de leite de vacas da raça Holandesa (HPB) e ½ Sangue (HPB x Jersey), mantidas em pasto tropical de capim Elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameroon) 59

Tabela 13 - Consumo de forragem, Eficiência e relação Lis:Met..... 61

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a pecuária leiteira no Brasil tem passado por sérias transformações. As exigências por qualidade, sejam elas nutricionais ou sanitárias são maiores a cada dia. Sistemas de bonificação por teor de gordura, teor de proteína, contagem de células somáticas e contagem bacteriana, estão sendo adotados pelas principais empresas do país. Isto tem aumentado o interesse dos produtores por técnicas que promovam aumento no teor de sólidos no leite. Ajustes finos na nutrição energética e protéica das vacas, adequações ambientais, melhoramento genético e cruzamentos entre raças, são ferramentas que permitem alterar positivamente o teor e a produção de sólidos do leite (INTERLEITE, 2007).

A produção de proteína no leite se dá em função do suprimento de aminoácidos absorvidos no intestino delgado que chegam à glândula mamária (DOEPEL et al., 2004; LAPIERRE et al., 2006a, b; SCHWAB et al., 2006). Porém, não só o suprimento de aminoácidos é importante, necessitando-se que estes estejam em correto balanceamento, em especial no tocante à lisina e metionina, que são os primeiros aminoácidos limitantes para a produção de proteína do leite (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 2001; SCHWAB et al., 1992).

O fornecimento destes aminoácidos em proporções ideais aumenta a eficiência de uso da proteína metabolizável para a produção de proteína do leite e permite formular rações com teores menores de PB. Isto consequentemente resulta em menor descarga de nitrogênio no ambiente, sem afetar negativamente a produção e composição do leite (DINN et al., 1998).

Apesar de respostas positivas de vacas de alta produção ao uso de MET protegida terem sido relatadas (NRC, 2001), tem sido discutida a dificuldade da operacionalidade de fornecimento deste produto em sistemas comerciais de produção. Isto se deve ao risco de ruptura na película protetora que reveste o aminoácido, durante o processo de manuseio e mistura dos ingredientes da ração total. Considerando isso e a busca por fontes de MET de menor custo, tem crescido nos últimos anos o numero de trabalhos com análogos deste aminoácido como o HMB (ácido 2-hidroxi-4-metil-butânico) em rações de vacas leiteiras.

Por ser uma fonte líquida, o HMB pode ser facilmente adicionado a ração total ou durante a peletização de alimentos (RULQUIN et al., 2006). Este análogo é convertido em MET em vários tecidos dos ruminantes, especialmente nos rins (24%) e fígado (22%) de acordo com dados obtidos com cordeiros (LOBLEY et al., 2006).

Mais recentemente foi desenvolvido o éster isopropílico do HMB (HMBi). Tem sido observado que parte deste produto é absorvido através da parede do rúmen sem sofrer degradação ruminal, constituindo-se em fonte de metionina para ruminantes. Apesar do número ainda restrito de trabalhos, o HMBi parece ser uma fonte promissora para aumentar o suprimento de MET para vacas de alta produção, com respostas consistentes em produção de proteína do leite (NOFTSGER et al., 2005; St. PIERRE; SILVESTER, 2005; RULQUIN et al., 2006).

Vacas leiteiras de alto mérito genético, quando mantidas em pastagens tropicais bem manejadas, dependendo da dose de concentrado,podem produzir entre 4500 a 7000 kg de leite em 305 dias de lactação (SANTOS et al., 2007). Para vacas no terço médio de lactação, com produções diárias de 16 a 22 kg de leite, de acordo com o NRC (2001), a relação lisina: metionina na proteína metabolizável é maior que 3:1. Não foram encontrados trabalhos na literatura avaliando a resposta destes animais ao suprimento de fontes protegidas de metionina.

O cruzamento entre vacas de raças diferentes vem sendo discutido com maior interesse nos últimos anos. A introdução de sangue de touros Jersey em rebanhos de vacas HPB mantidas em pastagens pode ser interessante por resultar em animais de porte médio, adequado para sistemas em pasto, pela heterose, com efeitos positivos em fertilidade e rusticidade e também por melhorar o teor de sólidos do leite. Sistemas em pasto focam a produção de leite e de sólidos por área. Em simulação feita com dados do rebanho leiteiro da Nova Zelândia, foi demonstrado que sistemas de produção que utilizavam animais cruzados entre HPB e Jersey eram mais eficientes que sistemas baseados nas raças puras (LOPEZ-VILLALOBOS et al., 2000).

O presente experimento teve como objetivo avaliar a resposta de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais suplementadas com metionina protegida contra a degradação ruminal, na forma do análogo (HMBi), para obter relação lisina:metionina ao

redor de 3:1. Também avaliou-se a produção e composição do leite de vacas HPB versus vacas cruzadas HPB x Jersey.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção de leite em pastagem tropical

A alimentação de vacas em lactação representa de 40 a 60% do custo de produção de leite, devendo os produtores buscar programas de produção de forragens e sistemas de alimentação mais eficientes, que demandem menos mão-de-obra e investimentos, além de requerer menor inversão de capital, apresentando, ainda, menor impacto negativo sobre o meio ambiente (MATOS, 1997). Nesse sentido, a produção de leite baseada em pastagens torna-se uma opção capaz de diminuir custos dos sistemas de alimentação animal (HOLMES, 1996).

A utilização de pastagens tropicais para a produção de leite é caracterizada pelo elevado potencial de MS das gramíneas forrageiras, mas com base em diversos dados de composição bromatológica, composição morfológica e estrutura da planta relatados na literatura, limitações podem ser impostas ao desempenho de vacas leiteiras mantidas nessas pastagens (BALSALOBRE, 1996). O manejo adequado das plantas forrageiras tropicais deve ser o primeiro passo para a intensificação dos sistemas de produção de leite em pastagens, e assim contribuir para a redução dos fatores apontados como limitantes para se obter elevado desempenho animal (CAMARGO, 1996).

Sistemas intensivos em pastagens requerem a aplicação de técnicas adequadas de manejo das pastagens visando otimizar tanto a produção e a colheita quanto a eficiência de utilização dessa forragem pelo animal (da Silva & Pedreira, 1996). Essa utilização eficiente da forragem colhida pelo animal depende do atendimento de requisitos básicos como sanidade, conforto animal e suplementação de nutrientes deficientes na forragem para atender as exigências nutricionais do animal para determinado nível de produção (CAMARGO, 2005; SANTOS et al., 2005).

Pastagens de gramíneas forrageiras tropicais, desde que bem manejadas e adubadas, podem suportar altas taxas de lotação durante a estação chuvosa e fornecer nutrientes para a produção de leite em torno de 10 a 12 kg/vaca/dia, em regime exclusivo de pastagens (CÓSER et al.,1999; DERESZ et al., 1998). O fornecimento exclusivo de pastagens tropicais de modo geral não atende às exigências nutricionais de

vacas leiteiras com produções diárias superiores aos valores acima mencionados (SANTOS et al., 2003). O comprometimento das reservas corporais para garantir a produção de leite nessas condições tem sido uma preocupação constante dos nutricionistas. Esta preocupação tem sido crescente em função principalmente do avanço no potencial genético dos rebanhos atuais (BARGO, 2003). Desta forma, a suplementação com concentrado para suprir as deficiências nutricionais de ordem qualitativa e quantitativa dos animais pode ser uma prática importante para aumentar a produtividade dos sistemas de produção de leite em pastagens tropicais manejadas intensivamente (SANTOS et al., 2005).

Em sistemas intensivos de produção de bovinos em pasto, a adoção de intervalos entre pastejos (IEP) fixos tem sido criticada. Da Silva e Nascimento Jr. (2006) têm conduzido uma série de trabalhos de pesquisa, propondo que a entrada dos animais no pasto seja determinada pelo momento em que o dossel forrageiro atingir 95% de interceptação luminosa (IL). Este valor está correlacionado com uma determinada faixa de altura do dossel forrageiro.

Em trabalhos realizados com diversas espécies de plantas forrageiras, tem sido demonstrado que as alturas em que o dossel atinge 95% de IL durante a rebrotação variam conforme a planta considerada. Com base no valor de 95% de IL, as alturas de entrada recomendadas têm sido de 90 cm para o capim-mombaça (CARNEVALLI et al., 2006), 70 cm para o capim - tanzânia (BARBOSA et al., 2007), 100 cm para o capim-cameroon (VOLTOLINI, 2006) e 25 cm para o capim-marandu (SOUZA JÚNIOR, 2007; TRINDADE, 2007).

Voltolini (2006) e Carareto (2007) relataram maior produção de leite das vacas, maior lotação dos pastos e conseqüente maior produção de leite por área, quando capim Elefante, cv Cameroon, foi manejado com critério de entrada nos pastos com base na IL de 95% (1,03 m) em comparação com IEP fixos de 27 dias.

A melhora na composição bromatológica e morfológica das pastagens manejadas corretamente pode tanto aumentar a produção de leite das vacas, sem alteração nas doses de concentrado como relatado por Voltolini (2006) e Carareto (2007), quanto manter a produção de leite das vacas com doses menores de concentrado.

Segundo Muller e Falles (1998), o potencial de produção de leite de vacas pastejando exclusivamente gramíneas temperadas é de 25 a 30 kg leite vaca^{-1} dia^{-1}, enquanto que em pastagens tropicais os resultados obtidos têm sido bem mais modestos.

Santos et al. (2003) revisaram a literatura sobre a produção e composição do leite de vacas mantidas em sistemas de produção baseados exclusivamente em gramíneas forrageiras tropicais. O valor de produção de leite médio obtido foi de 9,10 kg de leite dia^{-1}, com uma variação de 5,0 a 13,7 kg de leite dia^{-1}. Os teores médios de gordura, proteína e sólidos totais foram 3,9, 3,2 e 12,38, respectivamente.

O fator determinante que limita a produção de leite de vacas mantidas exclusivamente em pastagens tropicais não é o teor de energia ou proteína dessas plantas. Limitação na capacidade de ingestão de MS de forragem parece ser o fator preponderante (SANTOS et al., 2005). O consumo de MS de forragem de vacas mantidas exclusivamente em pastagens tropicais foi em média 2,34% do peso, com valores máximos de 2,8% de acordo com os dados revisados por Santos et al. (2003).

De acordo com o NRC (2001) para uma vaca com 520 kg de PV, produzindo leite com 3,8% de gordura e 3,2% de PB, o consumo de 12,2 kg de MS de pasto (2,34% do PV) com 16% de PB e 63% de NDT, supre energia líquida e proteína metabolizável para a produção de 11 kg de leite. A ingestão de 17 kg de MS dessa mesma forragem supriria energia e proteína para a produção de 20 kg de leite. A não observância de consumos de forragens tropicais nessa magnitude impõe desafios a pesquisadores, consultores e produtores de leite, no sentido de aperfeiçoar práticas de manejo da pastagem e do animal visando maximizar a ingestão de forragem e a produção de leite.

Indiscutivelmente, maximizar o consumo de forragem de animais em pastejo é o grande desafio que se apresenta em sistemas de produção em pastagens tropicais. O consumo de forragem é determinado por fatores intrínsecos do animal, como sua capacidade de ingestão, e fatores intrínsecos do pasto como a concentração de nutrientes, taxa de degradação, composição morfológica e estrutura do pasto pré e pós pastejo (DA SILVA; NASCIMENTO Jr., 2007). Além desses aspectos mencionados, o consumo de forragem também é afetado por aspectos de manejo, como conforto

térmico, competição entre animais, distância percorrida pelo animal, etc (SANTOS et al., 2005).

Atingido o potencial máximo de produção de leite exclusivamente em pastagem, a suplementação com concentrado torna-se então ferramenta fundamental quando se objetiva aumentar a produção de leite por vaca, com impacto positivo também na lotação dos pastos, e conseqüentemente na produção de leite por área. Segundo Da Silva e Pedreira (1996), sistemas que utilizam vacas de bom potencial genético, mantidas em pastagens tropicais manejadas intensivamente com suplementação de concentrado, podem atingir produções superiores a 30.000 kg de leite ha^{-1} ano^{-1}. Produtividades entre 10 a 26.000 kg de leite ha^{-1} ano^{-1} em sistemas comerciais foram relatados por Santos et al. (2005).

Quantidades diversas de concentrado têm sido estudadas para sistemas de produção de leite em pastagens tropicais, variando de 1 a 11 Kg de concentrado por $vaca.dia^{-1}$, com produções da ordem de 8,3 a 30,6 Kg de leite $vaca^{-1}$ dia^{-1} (VILELA et al., 1996; ALVIM et al., 1997; FONSECA et al., 1998; TEIXEIRA et al., 1999). A utilização correta de concentrado é um instrumento potente para aumentar a produtividade do sistema, devido ao impacto na produção individual da vaca e ao aumento na lotação da pastagem e conseqüente aumento na produção de leite por área. (SANTOS et al., 2005).

O fornecimento de concentrado promove efeitos de longo e de curto prazo em sistemas de produção de leite baseado em plantas forrageiras tropicais. Os efeitos de curto prazo são: aumento no consumo de MS total, diminuição no consumo de MS de forragens (efeito de substituição), aumento na produção individual de leite e aumento no peso vivo. Em contrapartida, os efeitos de longo prazo são: aumento na taxa de lotação das pastagens, aumento na fertilidade, aumento no consumo de MS por área, aumento no tempo de duração da lactação e aumento na produção de leite por área. Em síntese, a curto e longo prazo, a suplementação com concentrado promove aumento na produção de leite individual e por área e melhoria nos índices de fertilidade do rebanho (HOLMES; MATHEWS, 2001).

2.2 Aminoácidos para vacas leiteiras

Até o final da década de 60 assumia-se que a quantidade e a qualidade da proteína chegando ao intestino de vacas lactantes era adequada ao suprimento das necessidades de mantença e de produção de leite. Pensamento este que se baseava em experimentos anteriores, onde um excesso de proteína foi adicionado à dieta, excedendo o requerimento estabelecido, sem, entretanto gerar aumento de produção e/ou melhoria na composição do leite. Contrariamente, quando vacas eram alimentadas com quantidades de proteína aquém do exigido um decréscimo na produção da produção total e do conteúdo protéico do leite era frequentemente encontrado (TOMAS, 1971).

Apesar da ausência de ferramentas para tal, no início dos anos 70 já se sabia que a nutrição protéica para ruminantes deveria ser avaliada em termos dos aminoácidos que são absorvidos no intestino em relação aos requerimentos para produção e mantença. Também era sabido que a proteína microbiana sintetizada no rúmen era a maior fonte destes aminoácidos que chegavam aos sítios de absorção no intestino delgado destes animais, quando alimentados com as dietas comumente utilizadas, e que a máxima produção de proteína microbiana somente seria conseguida se a flora microbiana fosse suprida com quantidades adequadas de energia, nitrogênio e minerais (CLARK, 1975). Contudo, os microrganismos não são a única fonte protéica do bovino pois parte da proteína da dieta passa pelo rúmen sem sofrer degradação e alcança o intestino delgado (CHALUPA, 1975; HOGAN, 1975; SATTER; ROFFLER, 1975). Desta forma, o perfil de aminoácidos absorvidos pelo intestino é frequentemente diferente do ingerido através da ração. O perfil de aminoácidos da proteína bacteriana, analisado por Puser e Buechler (1966), apresentou pouca variação, mostrando-se constante independentemente da composição da dieta (forragem ou concentrado).

Inicialmente, estudos foram conduzidos para avaliar o efeito da infusão pós ruminal de diversos substratos protéicos e elucidar qual ou quais nutrientes estavam faltando ou sendo limitantes para a produção de leite das vacas, naquela época consideradas de alta produção (em torno de 20 kg leite vaca.dia^{-1}). Clark (1975) sumarizou diversos estudos onde a caseína foi infundida no abomaso. Muitos pesquisadores testaram a infusão pós ruminal com caseína, pois ela é o maior

componente protéico do leite, de forma que espera-se que a caseína forneça um perfil ideal de aminoácidos para a síntese protéica no leite. Neste resumo de vários trabalhos concluiu-se que para as vacas de alta produção (20 kg leite dia^{-1}) a resposta mais frequentemente observada era aumentos em produção de leite da ordem de 1 kg ou mais. Ao passo que os experimentos utilizando vacas de menor produção dificilmente encontraram resultados dessa grandeza. Quantidades de caseína, infundida no abomaso, da ordem de 300 a 500 g dia^{-1} pareciam ser o suficiente para expressar a máxima resposta animal, sem, entretanto, deprimir o consumo de matéria seca (VIK-MO et al., 1970; DERRIG et al., 1974; SPIRES et al., 1975). Quando 800 g de caseína mais metionina foram infundidos no abomaso, Broderick, et al. (1970) observaram significativa depressão no consumo.

Com a evolução dos trabalhos cresceu o interesse em saber como os aminoácidos atuam na produção de leite e de proteína no leite, quais são os mais limitantes em diferentes dietas e qual a forma mais eficiente de supri-los. Ficou demonstrado que em rações típicas de vacas leiteiras utilizadas na América do Norte e parte da Europa, lisina e metionina eram os primeiros aminoácidos a limitar a produção de leite e/ou de proteína do leite (SCHWAB et al., 1976; BRODERICK et. al., 1970). Alguns estudos foram conduzidos avaliando-se o efeito no desempenho (produção e composição de leite) de vacas leiteiras recebendo infusão pós-rúmen ou via intravenosa com aminoácidos. Outros estudos avaliaram a inclusão de análogos de aminoácidos, especialmente metionina (OLSON; GRUBAUGH, 1974; GRIEL et al., 1968; POLAN et al., 1970; HUBER et al., 1984) porém, sem resultados conclusivos.

Em meados da década de 80 o National Research Council lançou uma nova versão das tabelas de exigências nutricionais para ruminantes (Ruminant Nitrogen Usage *1985*). Esta nova versão trouxe uma alteração conceitual no requerimento protéico dos ruminantes. Enquanto na versão anterior para o gado leiteiro (NRC, 1978) os requerimentos protéicos eram baseados em proteína bruta, a nova versão introduziu o conceito de proteína absorvida que seria uma primeira versão do conceito de proteína metabolizável (PM) presente no NRC (2001).

Apesar do conhecimento ainda limitado na época sobre o metabolismo dos aminoácidos nos tecidos dos ruminantes, com base em diversos experimentos com

vacas em lactação onde foi avaliada a administração de aminoácidos pós-rúmen (CLARK, 1975), ficou claro que os requerimentos por AA diferiam do suprido pelo rúmen e que a eficiência da utilização do nitrogênio em ruminantes de alta produção poderia ser melhorada através da manipulação do suprimento de AA após o rúmen (NRC 1985; CLARK et al., 1977).

São vinte os aminoácidos presentes nas proteínas corpóreas, que são divididos em dois grupos. Os não essenciais, que são aqueles passíveis de serem sintetizados pelo organismo animal, desde que uma quantidade suficiente de nitrogênio e carbono esteja disponível. São eles: Alanina (Ala), Ácido Aspártico (Asp), Asparagina (Asn), Cisteína (Cis), Ácido Glutâmico (Glu), Glutamina (Gln), Glicina (Gli), Prolina (Pro), Serina (Ser) e Tirosina (Tir). O outro grupo é formado pelos aminoácidos essenciais: Arginina (Arg), Histidina (His), Isoleucina (Ile), Leucina (Leu), Lisina (Lis), Metionina (Met), Fenilalanina (Phe), Treonina (Trh), Triptofano (Trp) e Valina (Val). (NRC 1985; SANTOS, 2006). Estes são considerados essenciais, pois o organismo animal não consegue sintetizá-los ou se o faz, não faz em quantidade suficiente. Por este motivo nutricionalmente é dada importância apenas aos essenciais.

Uma outra classificação dos aminoácidos se dá em função dos metabólitos produzidos quando estes são utilizados para outro fim que não a síntese de proteínas. Dessa maneira eles são classificados como Glucogênicos (Ala, Arg, Asp, Cis, Glu, Gli, His, Met, Pro, Ser, Thr e Val), Cetogênicos (Leu) e Glucogênicos e Cetogênicos (Ile, Lis, Phe, Trp e Tir). O ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs) é uma via metabólica fundamental para o metabolismo dos aminoácidos.

Na Tabela 1, são apresentados os intermediários do Ciclo de Krebs produzidos na degradação de aminoácidos geradores de glicose (SANTOS, 2006; KOZLOSKI, 2002).

Tabela 1 – Agrupamento dos aminoácidos gliconeogênicos de acordo com o local de entrada no Ciclo de Krebs

Piruvato	α-cetoglutarato	Succunil-SCoA	Fumarato	Oxaloacetato
Alanina	Glutamato	Valina	Fenilalanina	Asparagina
Serina	Glutamina	Treonina	Tirosina	Aspartato
Cisteína	Prolina	Metionina		
Glicina	Arginina	Isoleucina		
Triptofano	Histidina			

Fonte: Kozloski (2002)

Os aminoácidos livres na corrente sanguínea são advindos das degradações protéicas dos tecidos ou absorvidos no trato gastrintestinal. A absorção ocorre nas células da mucosa do intestino delgado, na forma de aminoácidos livres, di- e tri-peptídeos. Grande parte dos polipeptídios é hidrolisada na mucosa intestinal a AA livres e então passam para a corrente sanguínea. Uma porção dos AA advindos da digestão protéica intestinal é destinada à síntese de proteínas ou são oxidados pelas células intestinais, antes de entrarem no sistema vascular. Após serem absorvidos os AA são transportados ao fígado, via veia portal, e então transportados aos demais órgãos e tecidos (MCCORMICK; WEBB, 1982).

Um balanceamento ocorre nos tecidos, quando estes estão sintetizando proteína e ocorre uma retirada de AA da corrente sanguínea. Ao passo que quando o animal é alimentado com uma dieta deficiente em energia ou proteína há uma perda de AA livres dos tecidos, como acontece com os músculos esqueléticos (NRC, 1985). A extração de AA do sangue pelos tecidos como a glândula mamária, por exemplo, talvez não seja proporcional ao aparecimento destes nas proteínas (MEPHAM, 1982), indicando um metabolismo tecidual dos aminoácidos, seja para a formação de outros AA, seja para a obtenção de energia, através da oxidação.

Aminoácidos limitantes são aqueles supridos em quantidade aquém do requerimento, limitando assim o desempenho animal. Lisina e metionina foram identificados como os primeiros a limitar a produção e composição de leite, Histidina tem sido apontada como próximo limitante em algumas rações. Usando infusão pós ruminal

de AA, Schwab et al. (1976), demonstraram que metionina e lisina são os AA mais limitantes nas rações de vacas leiteiras para a produção de leite e secreção de proteína. Em estudos subseqüentes, usando infusões pós ruminal de AA individuais ou lisina e metionina protegidos, ficou comprovado que na grande maioria das rações, lisina e metionina são os dois primeiros AA limitantes (RULQUIN et al., 1993). A extensão e a seqüência da limitação parecem ser afetadas primeiramente pela quantidade de proteína não degradável no rúmen (PNDR) na dieta e sua composição de AA.

Metionina foi o primeiro aminoácido limitante para a produção de proteína do leite quando vacas leiteiras foram alimentadas com dietas com alta proporção de forragem ou proteína de soja e a ingestão de PNDR foi baixa. Quando a maior parte da PNDR da dieta de vacas leiteiras era suprida por alimentos protéicos derivados de soja, proteína animal ou a combinação dos dois, a metionina foi identificada como o AA mais limitante. Ficou, dessa forma, claramente evidenciado a metionina como o primeiro AA limitante quando a maior parte da proteína sobrepassante (*By-pass)* é advinda de farelo se soja (ARMENTANO et al., 1993; ROBERT et al., 1996a; RULQUIN; DELABY, 1994).

A lisina foi claramente identificada como sendo o primeiro limitante para a síntese protéica do leite quando proteína do milho é o principal constituinte do suprimento protéico “by-pass” (ROBERT et al., 1996b). Metionina e lisina foram identificados como co-limitantes quando as vacas foram alimentadas com silagem de milho e suplementadas com uma pequena quantidade de proteína (NRC, 2001). Co-limitação talvez exista com rações compostas de grãos de milho como única fonte energética e farelo de soja como a principal fonte protéica (KOCH et al., 1996). Posteriormente, a histidina mostrou-se ser mais limitante que lisina ou metionina quando as vacas foram alimentadas com rações baseadas em silagem de capim, cevada e aveia com ou sem farinha de penas como única fonte de PNDR (KIM et al., 1999; VANHATALO et al., 1999; KORHOHEN et al., 2000).

Os principais sistemas de exigências nutricionais para ruminantes (INRA, NRC e CNPCS) evoluíram no conhecimento sobre a exigência protéica. As últimas versões destes sistemas permitem o balanceamento individual de cada um dos dez aminoácidos essenciais.

O sistema francês usa a terminologia de proteína digestível no intestino (PDI), que envolve os aminoácidos metabolizáveis (digestíveis), permitindo a formulação de rações para vacas leiteiras baseados em lisina e metionina metabolizáveis. AA digestíveis (metabolizáveis), especialmente metionina digestível (MetDI) e lisina digestível (LisDI) tiveram seus requerimentos calculados através do estabelecimento de representações exponenciais de produção e concentração de proteína do leite como variável resposta a aumentos seqüenciais nas doses de MetDI e LisDI, obtidas da literatura (RULQUIN et al., 1993). O relacionamento exponencial estabelecido para metionina foi obtido com MetDI variável e LisDI constante e são válidos apenas para valores de LisDI maiores que 6,5%. Para menores concentrações de LisDI não há resposta ao aumento do suprimento de MetDI (RULQUIN et al., 1993). Rulquin et al. (1993) estabeleceram os requerimentos de MetDI e LisDI, como sendo 2,5 e 7,3% da PDI, respectivamente.

O NRC (2001) propôs os requerimentos de metionina e lisina para vacas leiteiras com base na (PM). A metodologia usada pelo NRC foi uma aproximação dose-resposta, como descrito por Rulquin et al. (1993). A secreção de proteína no leite foi usada como resposta ao aumento das doses de MetDI. A base de dados utilizada foi composta de diversos trabalhos onde a metionina foi suprida através de infusões contínuas no abomaso ou duodeno, ou através da adição de formas de metionina protegida na dieta das vacas. Estimou-se então, que a máxima produção e concentração de proteína do leite seriam expressas quando a dieta contivesse 2,4 % MetDI. A mesma metodologia aplicada a lisina conduziu a uma exigência de 7,2 % LisDI com um valor limite de 1,95% MetDI. Estes valores requeridos, 2,4 e 7,2 % de MetDI e LisDI, respectivamente, propostos pelo NRC (2001) são similares aos obtidos por Rulquin et al. (1993).

O sistema de Cornell (CNCPS) para avaliação de dietas de bovinos, e seu sub modelo para AA, é o mais dinâmico dos modelos fatoriais (O'CONNOR et al., 1993). Neste sistema os requerimentos são expressos com base em quantidade diária (g dia^{-1}) e pelo perfil (cada AAE como uma % do total de AAE). Foi estimado um requerimento da ordem de 5,2% do total de AAE para metionina e 16,3 para lisina, os quais têm alto grau de correspondência com os estabelecidos pelos outros dois sistemas (INRA e NRC).

Em alguns estudos a resposta marginal à MetDI adicional permaneceu positiva e linear entre 1,5 e 2,4% de MetDI, com um suprimento de 7,3% de LisDI (PISULEWSKI et al., 1996; SOCHA et al., 1994a, b). Em outro estudo (SOCHA et al., 1994c), não foi encontrada resposta ao aumento da concentração de MetDI. Quando a concentração de LisDI foi de apenas 6,5%, não houve aumento na secreção de proteína do leite em resposta a um suprimento adicional de MetDI. Quando houve aumento simultâneo de LisDI e MetDI de 6,50-1,80% para um mínimo de 6,80-2,15%, foi observado um aumento na secreção de proteína no leite da ordem de 37g cabeça^{-1} dia^{-1} (SLOAN et al., 1994).

Os valores propostos por Rulquin et al. (1993) de 2,5 e 7,3 % da PDIE e pelo NRC (2001) de 2,4 e 7,2 % PM parecem ser boas estimativas dos requerimentos de MetDI e LisDI / Met e Lis, respectivamente. Entretanto, para uma aplicação prática na formulação de rações para vacas leiteiras 2,2 e 7,0 % da PDIE, respectivamente para MetDI e LisDI, ou utilizando o NRC (2001) 2,2 e 6,6 % da PM para Met e Lis seria uma recomendação economicamente viável.

Para tanto, o conhecimento prévio do perfil de AA dos componentes da dieta com atenção especial aos ingredientes protéicos ricos em proteína não degradável no rúmen (PNDR) se faz necessário. Os perfis de AA dos principais ingredientes utilizados em dietas de vacas leiteiras, no Brasil estão listados na Tabela 2, que permite a comparação com o perfil do leite e dos tecidos.

Como pode ser observado na Tabela 2, poucos ingredientes são boas fontes de lisina e metionina havendo então a necessidade do uso de aminoácidos sintéticos para que o correto balanceamento da dieta seja alcançado. O farelo de soja, por exemplo, é uma fonte balanceada de lisina, porém os outros farelos protéicos de origem vegetal são pobres em ambos, lisina e metionina. Muitas rações são deficientes em metionina, porém adequadas em lisina, principalmente quando se utiliza silagem de milho e farelo de soja, que são dois dos ingredientes mais utilizados nas dietas de vacas leiteiras. Para alcançar os requerimentos de metionina nestas dietas uma boa fonte de metionina protegida deve ser usada.

O balanceamento de dietas de vacas leiteiras com base no suprimento adequado de metionina digestível tem efeito positivo na secreção de proteína do leite,

aumentando a concentração e a produção. O consistente aumento na secreção protéica do leite, observado como resultado da melhoria do suprimento de metionina passível de ser absorvida é devido a um aumento na caseína do leite, ou seja, um aumento na produção de proteína verdadeira do leite (PISULEWSKI et al., 1996).

Respostas em produção de leite em função de uma otimização de lisina e metionina digestíveis são mais comuns em vacas no início da lactação do que nas em meio ou final. Socha et al. (1994d) observaram um aumento no volume de leite produzido da ordem de 3,5 kg dia^{-1} para vacas no início da lactação e a produção de proteína do leite aumentou em média 80 g vaca^{-1} dia^{-1}. Resultados semelhantes foram encontrados por Socha et. al. (2005). Robert et al. (1994) observaram um pronunciado aumento na produção e concentração de proteína do leite durante os primeiros 84 dias de lactação após o balanceamento da ração quanto à metionina digestível.

Algumas tecnologias foram desenvolvidas para que seja possível a proteção do aminoácido. Dentre as principias destacam-se:

- ✶ Proteção através do revestimento da superfície do aminoácido com uma mistura de ácido graxo/ polímeros sensível ao pH (Smartamine™, SmM – Adisseo);
- ✶ Proteção através do revestimento com matrizes envolvendo gordura ou ácidos graxos saturados, etil celulose e minerais (Mepron® M85 – Degussa);
- ✶ Uma fonte líquida do hidróxido análogo da metionina (DL, 2-hidroxi-4(metil) acido butâmico, HMB) (Rhodimet™ AT88 – Adisseo); (Alimet® - Novus);
- ✶ Recentemente o éster isopropílico do HMB (HMBi, Metasmart™ – Adisseo).

Estes produtos foram desenvolvidos para que fosse possível o balanceamento de rações com o objetivo de suprimento extra de metionina para a glândula mamária para aumentar a síntese de caseína. É preciso conhecer os valores de biodisponibilidade para determinar qual dose do produto deve ser suprida na ração e qual o nível economicamente viável. A biodisponibilidade da metionina é definida como a proporção do produto que será absorvida através da parede intestinal, entrando na corrente sanguínea do animal. Diferentes métodos foram propostos para se estimar a biodisponibilidade da metionina. Testes *in vitro*, *in situ* e medições do fluxo no trato digestivo – duodeno, jejuno e fezes.

Tabela 2 – Comparação dos perfis de AAE do leite e tecido animal com os principais ingredientes utilizados nas rações de vacas leiteiras no Brasil

Item	Arg	His	Ile	Leu	Lis	Met	Phe	Thr	Trp	Val	AAE
	% dos AAE totais										(% da PB)
Leite	7,2	5,5	11,4	19,5	16,0	5,5	10,0	8,9	3,0	13,0	----
Tecido	16,8	6,3	7,1	17,0	16,3	5,1	8,9	9,9	2,5	10,1	----
Silagem de milho	6,2	5,7	10,6	27,2	7,9	4,8	12,1	10,1	1,4	14,1	31,6
Feno de gramínea	11,7	4,9	10,0	18,8	10,5	3,9	11,8	10,9	3,7	13,6	33,1
Silagem de gramínea	9,4	5,1	10,9	18,8	10,1	3,7	13,4	10,2	3,3	15,0	32,6
Cevada	13,4	6,1	9,2	18,5	9,6	4,5	13,5	9,1	3,1	13,0	37,7
Milho	11,5	7,8	8,2	27,9	7,1	5,3	11,5	8,8	1,8	10,0	40,1
Farelo de glúten de milho – 21	10,9	8,3	8,8	25,4	7,7	4,5	10,4	9,8	1,6	12,6	35,4
Farelo de glúten de milho – 60	7,1	4,7	9,1	37,2	3,7	5,2	14,1	7,5	1,2	10,3	45,2
Sorgo	9,4	5,7	9,3	31,9	5,4	4,2	12,3	7,8	2,5	11,6	42,8
Trigo	13,6	7,1	9,6	19,3	8,1	4,6	13,3	8,4	3,5	12,3	34,4
Resíduo seco de cervejaria	14,7	5,1	9,8	20,0	10,4	4,3	11,7	9,1	2,5	12,1	39,2
Farelo de Algodão	26,0	6,6	7,3	13,8	9,7	3,7	12,5	7,6	2,8	10,0	42,6
Farelo de Soja	16,2	6,1	10,1	17,2	13,9	3,2	11,6	8,7	2,8	10,2	45,3
Farelo de girassol	20,8	6,2	9,9	15,2	8,0	5,6	11,0	8,7	2,9	11,7	42,2

Fonte: NRC(2001); Adaptado de Santos e Greco (2007)

Os testes realizados com o Smartamine™ identificaram uma biodisponibilidade de 80% (ROBERT et al., 1997; RULQUIN; KOWALCZYK, 2003). Em relação ao Mepron® a literatura é um pouco contraditória com valores variando de 25% (KOENING; RODE, 2001) a algo em torno de 50% (OVERTON et al., 1996; BERTHIAUME et al., 2000) com avaliações *in situ*. Um estudo envolvendo o fluxo pelo trato digestivo apresentou valores de 50% (BERTHIAUME et al., 2001) e em estudos envolvendo parâmetros sanguíneos os valores encontrados foram de 20 a 35% (ROBERT et al., 1997; KOENIG; RODE, 2001). Olley et al. (2004) mediram a biodisponibilidade do Mepron® e encontraram valores de 41%, baseados em mudança na concentração de metionina plasmática e 22% baseado nas concentrações de metionina e cistina.

Para o HMB, resultados conflitantes foram observados por diferentes autores, usando diferentes metodologias. Medições *in vitro* usando técnicas de simulação ruminal, produziram valores de resistência ruminal variando de 22 a 43%, dependendo do tempo de retenção (VAZQUEZ-ANON et al., 2001). Em avaliações in vivo os valores de 40 a 50% foram observados como rúmen “by-pass”, com 12 a 45% medido no duodeno (KOENIG et al., 1996, 1999, 2002). Os autores sugerem que as diferenças entre as medições no rúmen e no duodeno se deram por causa de uma absorção no omaso e/ou abomaso. Avaliações da cinética sanguínea mostraram valores para a biodisponibilidade muito baixos, em torno de 3% (ROBERT et al., 1997). Quando o HMB foi incluído em uma dieta para vacas leiteiras recebendo mistura de ração total, foi observada uma passagem pelo rúmen de apenas 5% (NOFSGER et al., 2005). Talvez essa discrepância entre os resultados se dê em função dos diferentes métodos utilizados.

O HMBi, éster isopropílico do HMB (Figura 1), parece ser uma possível fonte economicamente viável para o fornecimento de metionina (Figura 2) adicional para ruminantes. Schwab et al. (2001), usando a concentração protéica no leite como resposta a doses crescentes de HMBi ou SmM, obtiveram uma biodisponibilidade para o HMBi de 50%. Guyot et al. (2004) realizaram uma meta-análise de sete experimentos de desempenho lactacional, analisando a concentração protéica do leite como resposta a

doses crescentes de HMBi, SmM e HMB e concluíram que o HMBi apresenta uma biodisponibilidade de 50% de equivalente metionina.

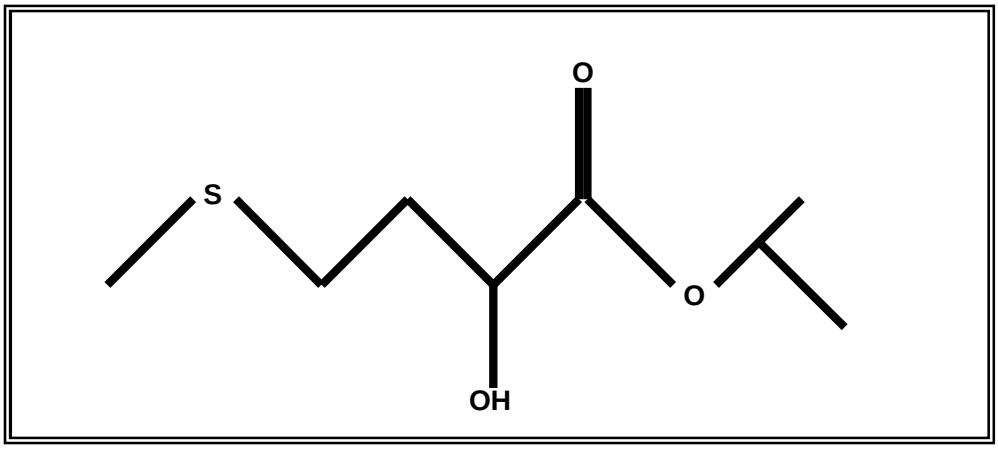

Figura 1 – Estrutura Molecular do HMBi – $C_8H_{16}O_3S$

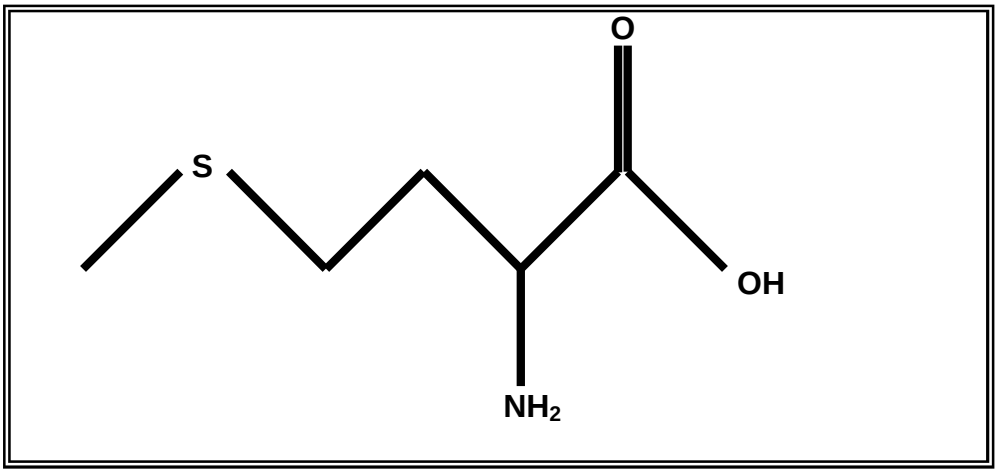

Figura 2 – Estrutura Molecular da Metionina – $C_5H_{11}O_2NS$

Em estudos in vitro foi demonstrado que o HMBi, no rúmen, é hidrolisado a HMB e isopropanol (ROBERT et al., 2002a). Parte do HMB, derivado do HMBi é absorvido através da parede do rúmen e o restante usado como substrato pelos microrganismos ruminais o que pode estimular a fermentação ruminal (ROBERT et al., 2002b; 2003). Noftsger et al. (2005) não encontraram HMBi no omaso de vacas em lactação que receberam 22 g dia^{-1} de HMBi incorporado na ração total e apenas

pequena quantidade de HMB (2-3 % do HMB contido no HMBi consumido), confirmando o uso pelos microrganismos.

Com o objetivo de verificar o tempo necessário para que se obtenha o pico de metionina no sangue periférico após o suprimento ruminal, comparações entre o HMBi e o SmM foram realizadas. Para o SmM, o tempo necessário para o aparecimento sanguíneo de metionina foi de 8 horas com o pico em torno de 20 hr; para o HMBi, esse tempo foi consideravelmente menor. Após 10 minutos do fornecimento já foi possível detectar HMB e metionina na corrente sanguínea, com respectivos picos ocorrendo a 1h30 min e a 4 horas (ROBERT et al., 2001, 2002c). O HMBi não é absorvido nos intestinos e o local de absorção mais provável é a parede ruminal (KRISTENSEN et al., 2000; GRAULET et al., 2005). A absorção ruminal do HMBi foi confirmada usando-se cateter nas veias ruminal e jugular de duas vacas holandesas com rúmen funcional. Quando doses de HMBi foram colocadas no rúmen apenas traços do produto foram encontrados na veia ruminal e não foi detectado na jugular. Em contraste, grandes quantidades de HMB e metionina foram rapidamente encontrados em ambas as veias, após a suplementação ruminal. Maior concentração plasmática de HMB foi encontrada na veia ruminal (8,5 mg/100g), comparada com a veia jugular (5,0 mg/100 g), confirmando a absorção ruminal do HMBi. A concomitante presença de HMB e isopropanol na veia ruminal sugere que o HMBi seja hidrolisado na parede ruminal (KRISTENSEN et al., 2000; GRAULET et al., 2005). Nozière et al. (2004), trabalhando com ovinos também observaram absorção do HMBi através da parede ruminal e a hidrólise à HMB e isopropanol neste mesmo local. Lobley et al. (2006) utilizando cordeiros verificaram que o HMB é convertido em metionina em diversos órgãos sendo os rins (24%) o fígado (22%) os principais.

Até o presente momento não se tem muitos estudos com o HMBi envolvendo desempenho lactacional de vacas leiteiras. Um resumo dos poucos trabalhos que foram encontrados na literatura está apresentado na Tabela 3. Pode se observar o aumento consistente na concentração de proteína do leite, em especial proteína verdadeira, em resposta à suplementação. Em apenas um estudo (STRZETELSKI et al., 2006) este resultado não foi observado.

Tabela 3 - Resumo dos dados de desempenho lactacional de vacas leiteiras alimentadas com HMBi

Leite kg dia^{-1} – controle -	Leite kg dia^{-1} – HMBi -	Gordura (und %)	Proteína (und %)	Referência
38,5	38,3	+ 0,07	+ 0,11	Noftsger, et. al, 2005
39,8	42,3	+ 0,21	+ 0,16	St-Pierre & Sylvester, 2005
42,0	42,0	=	+ 0,11	Hindle, et. al, 2006
=	=	=	+ 0,12	Jurjanz, et. al, 2006
31,4	31,5	+ 0,04	+ 0,10	Rulquin, et. al, 2006
25,6	25,6	- 0,08	- 0,01	Strzetelski, et. al, 2006

= : Valor não informado pelo autor, porém não diferiu entre os tratamentos.

St-Pierre e Sylvester (2005) Suplementaram vacas leiteiras com 0,15% de HMBi na ração (% MS). A ração controle continha 6,81% de LIS e 1,80% de MET na proteína metabolizável, de acordo com o NRC (2001). A produção de leite, o teor de proteína verdadeira, e consequentemente a produção de proteína verdadeira foram maiores para as vacas suplementadas com HMBi (Tabela 3).

A despeito do pouco número de trabalhos, o HMBi parece ser uma fonte promissora para aumentar o suprimento de MET para vacas de alta produção, com consistente aumento na produção de proteína do leite.

2.3. Cruzamentos para produção de leite

O cruzamento entre bovinos de raças leiteiras tem despertado crescente interesse pela indústria leiteira em geral (HEINS et al., 2006). Nos Estados Unidos mais de 95% do rebanho leiteiro é formado por raças puras, sendo a Holandesa a raça predominante (McALLISTER, 2002). A superioridade destas vacas em produzir leite contribuiu de forma significativa para o crescimento e a preponderância global desta raça ao longo do tempo. Entretanto, recentes mudanças no mercado de lácteos fizeram com que uma maior valorização fosse dada aos sólidos do leite. Mudanças estas que passaram a desafiar a competitividades da raça Holandesa, visto que seu maior atrativo

é a produção de grande volume de leite fluido, o que nem sempre é acompanhado por grande produção de sólidos totais (HEINS et al., 2006).

Seleção e cruzamento afetam diversos aspectos da lucratividade da indústria leiteira. Os custos com a produção podem ser reduzidos se a mesma quantidade de sólidos lácteos é produzida por hectare com um menor número de vacas (LOPEZ-VILLALOBOS et al., 2000). Melhorias significativas em produção e sobrevivência dos animais podem ser observadas como benefício da heterose, quando se utiliza o cruzamento entre raças (SWAN; KINGHORN, 1992; McALLISTER, 2002; VANRADEN; SANDERS, 2003).

Heins et al. (2006) compararam vacas holandesas puras (HPB) com vacas cruzadas com Normando (HPB-N), Montbeliarde (HPB-M) e Vermelha Escandinava (HPB-V). As vacas HPB produziram mais leite (305-d) e mais proteína. Entretanto, para a produção de gordura não foi encontrada diferença estatística entre HPB e HPB-V. A produção de gordura mais proteína foi 2% menor para as vacas HPB-V, quando comparado com as HPB, porém esta diferença não foi significativa.

Vacas HPB foram comparadas com cruzadas HPB x Jersey (HPB-J), na primeira lactação (HEINS et al., 2008). A produção de leite, produção de proteína e produção de proteína mais gordura foi significativamente maior para as vacas HPB.

No sistema de pastagens, utilizado na Nova Zelândia, o cruzamento entre as raças Holandesa e Jersey é muito comum. Os benefícios são mostrados em alguns estudos. A produção de gordura foi superior para as vacas cruzadas (HPB-J) quando comparada com as HPB puras (AHLBORN-BREIER; HOHENBOKEN, 1991). Bryant et al. (2007) observaram que as vacas HPB-J na Nova Zelândia tiveram uma produção de gordura e proteína maior que as vacas Holandesas puras por causa da heterose.

Uma possível perda na produção de leite, advinda do cruzamento, pode ser compensada pela melhoria em outras características como saúde, fertilidade e sobrevivência (HEINS et al., 2006). De forma generalizada Lopez-Villalobos et al. (2000) concluíram que o cruzamento entre vacas HPB e Jersey, na Nova Zelândia, pode ter um importante efeito na lucratividade da indústria leiteira como um todo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, clima e instalações

O estudo foi conduzido na área experimental de bovinos leiteiros do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, no município de Piracicaba, São Paulo. Piracicaba está localizada à 22º43' de latitude Sul, 47º 25'de longitude Oeste e a uma altitude de 580 metros. O clima dessa região é classificado como mesotérmico úmido, subtropical de inverno seco, denominado Cwa, com temperaturas médias variando de aproximadamente 18°C na estação fria, chegando a 25°C durante os meses mais quentes do ano (BRASIL, 1960). Os dados climáticos, durante o período experimental, foram obtidos a partir da estação metereológica da ESALQ/USP e estão apresentados na Tabela 4.

Foram utilizados 28 piquetes, com área de aproximadamente 0,2 hectares cada, formados por capim Elefante (*Pennisetum purpureum*), cultivar Cameroon. Nem todos os piquetes foram utilizados pelos animais durante todos os ciclos de pastejo, visto que o uso variou de acordo com o ritmo de crescimento da planta forrageira. Os animais tinham acesso livre a bebedouros e área de sombra natural.

Tabela 4 - Dados climáticos do município de Piracicaba nos meses de Janeiro e Fevereiro de 2007

Mês	Radiação Global (cal cmd $^{-1}$)	Insolação (h d^{-1})	Precipitação (mm)	Umidade Relativa (%)
Janeiro	374	3,8	267	92
Fevereiro	505	7,3	241	85
Mês	**Temperatura Máxima (^{o}C)**	**Temperatura Mínima (^{o}C)**	**Temperatura Média (^{o}C)**	**Dias de Chuva**
Janeiro	29,3	20,1	24,7	21
Fevereiro	31,6	19,3	25,5	12

Fonte: Base de dados da Estação meteorológica da ESALQ /USP.

3.2 Período experimental

A fase pré-experimental de 10 dias teve início em Dezembro de 2006. O período experimental de 56 dias ocorreu durante os meses de Janeiro e Fevereiro de 2007, sendo subdividido em dois sub-períodos de 28 dias cada. Os primeiros 14 dias de cada sub-período foram para a adaptação dos animais e nos 14 dias restantes foram realizadas as coletas dos dados.

3.3 Animais experimentais

Foram utilizadas 28 vacas, sendo 16 da raça Holandesa e 12 mestiças (½ HPB ½ Jersey), com 154 dias de lactação no início do período experimental.

Nos últimos três dias do período pré-experimental foram mensurados a produção individual de leite, o escore de condição corporal (ECC) e o peso corpóreo dos animais (Tabela 5).

Tabela 5 – Caracterização das vacas no início do experimento

Característica	Valor Médio	Desvio Padrão	Valor Mínimo	Valor Máximo
Produção de Leite, kg d^{-1}	18,94	3,59	13,70	26,55
Número de Partos	2,75	1,46	1	6
Dias em Lactação	153,82	78,02	49	330
Peso corpóreo, kg	492,88	80,18	325	619
Escore de Condição Corporal	2,79	0,20	2,50	3,25

3.4 Tratamentos experimentais

No presente estudo foi avaliada a inclusão do éster isopropílico do análogo de metionina HMB (ácido 2-hidroxi-4-metil-butânico), denominado HMBi (Metasmart™ – Adisseo), em rações para vacas em lactação mantidas em pastagens de capim Elefante.

Também foi avaliada a produção e composição do leite de vacas HPB e de vacas ½ HPB e ½ Jersey.

O HMBi foi previamente incluído à mistura mineral, a qual foi em seguida adicionado a outros ingredientes que compuseram o concentrado; os ingredientes foram misturados em equipamento horizontal com rosca sem fim, com capacidade para 260 kg. O concentrado era composto de milho, farelo de soja, polpa cítrica, mistura mineral e HMBi, para o tratamento com HMBi. As proporções dos ingredientes e as análises bromatológicas dos mesmos podem ser observados nas Tabelas 6 e 7, respectivamente. O concentrado foi formulado usando-se o programa computacional do NRC (2001) para bovinos leiteiros. O consumo de forragem considerado para a formulação do concentrado foi de 10,50 kg MS vaca^{-1} dia^{-1}, considerando uma vaca HPB com 540 kg de peso, produzindo 21 kg de leite aos 150 dias de lactação. A dose de concentrado na formulação foi de 6,2 kg de MS ou 6,9 kg de MN, perfazendo a relação de 1 kg de concentrado para cada 3 kg de leite produzidos.

O fornecimento do concentrado foi realizado de forma individualizada (Figura 3), duas vezes ao dia, antes da ordenha da manhã a após a ordenha da tarde. No dia 1 do período experimental foi fixada a quantidade de concentrado por vaca, seguindo a relação de 1:3, com base na produção média de leite de cada animal durante o período pré-experimental. Essa quantidade foi mantida inalterada até o final do período experimental.

Figura 3 - Vacas comendo concentrado

Tabela 6 - Proporção dos ingredientes do concentrado (% MS)

Ingredientes	Controle	HMBi
Milho	29,77	29,77
Farelo de Soja	20,00	20,00
Polpa Cítrica	45,86	45,86
HMBi	-	0,20
Mistura Mineral	4,17	4,17

Tabela 7 - Composição bromatológica dos concentrados experimentais e seus respectivos ingredientes

	% da MS				
Ingredientes	MS	PB	FDN	FDA	EE
Milho	87,32	10,07	12,60	4,56	4,12
Farelo de Soja	88,07	55,20	11,71	6,58	1,84
Polpa Cítrica	89,84	7,89	23,71	18,03	2,02
Concentrados					
Controle Período 1	88,57	18,09	17,10	15,39	2,49
Controle Período 2	89,14	18,19	17,86	15,72	2,33
HMBi Período 1	88,96	18,14	16,87	14,81	2,62
HMBi Período 2	89,32	18,31	17,62	15,39	2,41

MS: Matéria seca; FDN: Fibra insolúvel em detergente neutro; FDA: Fibra insolúvel em detergente ácido; EE: Extrato etéreo.

3.5 Manejo dos animais e da pastagem

Os pastos foram manejados em sistema rotacionado e adubados com 80 kg de N/ha na forma de Nitrato de Amônio, a cada ciclo de pastejo. Adotou-se o período de ocupação de dois dias e intervalo de desfolha (ID) variável, de acordo com o ritmo de crescimento da planta forrageira. Foi estabelecido que a entrada dos animais no piquete seria realizada quando o dossel atingisse a altura de um metro, garantindo assim 95% de interceptação luminosa (VOLTOLINI, 2006).

Os animais entravam em um novo piquete diariamente, após a ordenha da tarde. As vacas em lactação realizavam o pastejo no primeiro dia de ocupação, enquanto que vacas secas e novilhas realizavam o pastejo de repasse, no segundo dia. Dessa forma, um resíduo pós-pastejo de 40 cm foi sempre mantido.

As vacas eram ordenhas duas vezes ao dia, sendo a primeira às 7h00 e a segunda às 17h00.

3.6 Controle Leiteiro e Amostragem

Durante os 14 dias de cada período de coleta, foram realizadas pesagens de leite. O aparelho utilizado para medir o leite e colher as amostras (*Mark 5 Milk Meter*) está ilustrado na Figura 4. A composição do leite foi determinada por meio de amostras tomadas em dias alternados, sendo estas proporcionais à produção individual do animal em cada ordenha. As amostras foram conservadas em frasco plástico de 50 mL contendo conservante bronopol (2-bromo-2nitro-1,3-propanodiol) na concentração de 8 mg do ingrediente ativo para cada 40 mL da amostra, sendo encaminhadas ao Laboratório da Clínica do Leite - Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP. Os teores de gordura, proteína bruta, lactose, sólidos totais e nitrogênio uréico foram determinados pelo processo de absorção infravermelha, no equipamento Bentley 2000 ® (BENTLEY INSTRUMENTS Inc. Chasca, MN, USA), seguindo as instruções do fabricante (BENTLEY, 1995a).

A contagem de células somáticas, também foi realizada de forma eletrônica, por citometria fluxométrica, utilizando-se equipamento Bentley Somacount 300® (BENTLEY INSTRUMENTS Inc. Chasca, MN, USA). Este equipamento realiza a contagem de DNA reagido com o corante e iluminado por raio laser (SOMACOUNT, 1995b). Os resultados são expressos em mil células por mL de leite.

A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura foi calculada a partir da equação: [0,4324 * produção de leite (em kg) + 16,216 * gordura (em kg)], proposta por Tyrrell e Reid (1965).

Figura 4 – Equipamento utilizado para medir e coletar a mostra de leite

3.7 Determinação do escore de condição corporal

O escore de condição corporal (ECC) foi avaliado no início e final de cada sub-período, sempre pelo mesmo avaliador, previamente treinado. Utilizou-se escala de um a cinco, com intervalos de 0,25 pontos, sendo que o valor 1 representa vacas extremamente magras e 5 representa vacas excessivamente gordas (obesas), de acordo com Wildman et al. (1982).

3.8 Determinação das características quantitativas do dossel forrageiro

O dossel forrageiro foi caracterizado quantitativamente através da determinação da massa de forragem pré-pastejo. As amostras de forragem foram

obtidas durante o período de coleta nos piquetes a serem pastejados no dia de coleta de leite, ou seja, em dias alternados. Os cortes foram padronizados em aproximadamente 5 cm de altura em relação ao solo. As amostras foram colhidas em quatro pontos distintos de cada piquete, distantes aproximadamente 10 metros entre si (representados por 10 passos largos) os quais eram selecionados por meio de uma linha imaginária traçada no sentido da maior diagonal do piquete. Uma moldura de um metro quadrado, em formato quadrado, foi utilizada, seguindo as recomendações de Penati et al. (2001), para amostragens de forragens em áreas de até 2.000 m^2.

A altura do dossel forrageiro em pré-pastejo foi medida utilizando-se régua de madeira de 2,50m de comprimento, graduada em centímetros, permitindo o cálculo da densidade volumétrica do mesmo. . A altura foi considerada como sendo o comprimento desde o nível do solo até a curvatura de uma das folhas completamente expandidas. Em cada piquete foram tomadas 20 medidas aleatoriamente, garantindo que toda a área fosse abrangida. A densidade volumétrica foi calculada dividindo-se a massa de forragem pré-pastejo pela altura, descontando-se os cinco primeiros centímetros em relação ao nível do solo, sendo esta expressa em kg de MS cm^{-1} ha^{-1}.

3.9 Determinação das características qualitativas do dossel forrageiro

Na tentativa de caracterizar qualitativamente o dossel forrageiro foram avaliadas as composições bromatológica e morfológica da planta forrageira.

Uma sub-amostra de aproximadamente 300g, originada a partir da amostra colhida para a determinação da massa de forragem, foi utilizada para a determinação da composição morfológica da planta forrageira. Separou-se a planta em três partes: folhas (lâminas foliares), colmos (colmo + bainha) e material senescido, sendo este considerado como o material (folhas e colmos) com no mínimo 50% de sua constituição seca.

Para as análises de composição bromatológica da forragem, foram colhidas amostras de pastejo simulado em 20 pontos dos mesmos piquetes onde foram realizadas as amostragens para determinação de massa de forragem As amostras de

pastejo simulado foram tomadas simulando-se o pastejo realizado pelos animais durante o primeiro dia de ocupação do piquete.

3.10 Amostragem dos ingredientes dos concentrados

Amostras dos ingredientes do concentrado foram colhidas sempre que uma nova partida do mesmo chegasse à fábrica de ração. A mistura de concentrado (com e sem HMBi) foi amostrada em todas as batidas.

3.11 Determinação da composição química dos alimentos

As amostras de pastejo simulado foram secas a 55°C por 48 horas em estufa com circulação forçada de ar, moídas em moinho do tipo Willey em peneira com malha de 5 mm e, posteriormente, em malha de 1 mm. Os concentrados e seus respectivos ingredientes foram moídos diretamente em peneira de malha de 1 mm.

As amostras (pastejo simulado, concentrados e ingredientes), foram compostas por sub-período sendo determinados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e extrato etéreo (EE), segundo Campos et al. (2004). As análises de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) foram realizadas pelo método seqüencial em equipamento Ankon (Ankon 200 Fiber Analyser da Ankon Technology Corporation), com adição de sulfito de sódio (Na_2SO_3) (VAN SOEST, 1994). A lignina (LIG) foi determinada através da adição de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 72% ao resíduo insolúvel da FDA (GOERING; VAN SOEST, 1970; VAN SOEST et al., 1991).

As determinações dos teores de proteína bruta (PB) foram realizadas através de combustão, pelo método de Dumas pelo analisador de nitrogênio (LECO FP-2000 nitrogen analyser, Leco Instruments, Inc. St. Joseph, MI).

As amostras de pastejo simulado foram analisadas para a determinação do nitrogênio insolúvel em FDN (NFDN) e nitrogênio insolúvel em FDA (NFDA), realizadas

em equipamento Macro Kjeldahl (GOERING; VAN SOEST, 1970; VAN SOEST et al., 1991). Outra parte dessas mesmas amostras foram submetidas à análise para a determinação da digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca seguindo uma adaptação da técnica de “Tilley e Terrey” proposta por Goering e Van Soest (1970).

Para a determinação do perfil de aminoácidos dos concentrados, seus ingredientes e das amostras de pastejo simulado, uma sub-amostra dos mesmos foi enviada ao laboratório da ADISSEO® em Santa Maria-RS. As amostras foram analisadas pelo método de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC).

3.12 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi em *crossover* (2x2), com dois tratamentos e dois períodos. Os animais foram agrupados em pares homogêneos de acordo com a produção de leite no período pré-experimental, estágio de lactação, ordem de parição e grupo genético.

Para a análise dos dados utilizou-se o pacote estatístico SAS® versão 9.1.3 para Windows® (SAS INSTITUTE, 2003). Com exceção da contagem de células somáticas, os dados foram analisados através do PROC MIXED, seguindo um modelo misto, com o efeito aleatório de animal além dos efeitos fixos e efeito aleatório residual. Para os dados de contagem de células somáticas foi utilizada uma distribuição de Poisson, sendo analisados sob abordagem de modelos lineares generalizados (NELDER; WEDDERBURN, 1972). Quando os efeitos de tratamento foram importantes, as médias foram comparadas pelo teste Tukey, com 5% de significância.

Foi adotado o seguinte modelo estatístico para as variáveis experimentais:

$Y_{ijk} = m + Q_i + A_{j(i)} + S_{k(i)} + QTij + e_{ijkl}$,

Sendo:

m = media geral;

Q_i = efeito fixo do grupo de quadrado latino com i = 1,2,..., 28;

$A_{j(i)}$ = efeito aleatório do animal j dentro de Q_i, com j = 1,2;

$S_{k(j)}$ = efeito do período k dentro de Q_i, com k = 1,2;

T_l = efeito do tratamento l, com l = 1,2;

QT_{ij} = efeito da interação grupo de quadrado latino e tratamento;

e_{ijk} = erro relacionado a Y_{ijk}.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características quantitativas e qualitativas do dossel forrageiro

Os dados relativos às características quantitativas da pastagem estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Características quantitativas do dossel forrageiro pré-pastejo

Item	Período 1	Período 2
Massa de forragem, (t MS ha^{-1})	9,26	13,45
Massa de lâmina foliar, (t MS ha^{-1})	2,92	3,96
Altura do dossel, (m)	1,06	1,03
Densidade Volumétrica, (kg MS ha^{-1} cm^{-1})	90,35	132,01
Oferta de forragem, (kg MS 100 kg PV $animal^{-1}$)	53,67	68,20
Oferta de lâminas foliares, (kg MS 100 kg PV $animal^{-1}$)	16,92	20,08

Os valores de Massa de Forragem (MF) encontrados neste estudo são muito superiores aos encontrados em estudos prévios na mesma área, com o mesmo manejo da pastagem. Voltolini (2006) relatou valores de MF de 6,27 t MS ha^{-1}, enquanto Carareto (2007) relatou em seu estudo, MF de 6,21 T MS ha^{-1}. A explicação para tal discrepância pode vir do efeito do manejo anterior aplicado ao pasto. No experimento de Voltolini (2006), os pastos haviam sido roçados antes do início do experimento. O mesmo não foi feito no presente estudo, uma vez que desde o estudo de Voltolini (2006) a área vem sendo manejada com altura de entrada o mais próximo possível de 1 m. Essa prática tem permitido o controle do resíduo pós-pastejo ao redor de 40 cm de altura, eliminando assim a necessidade de roçada da área no início da estação de crescimento. Portanto, é possível que no presente estudo, o resíduo pós-pastejo, tenha material mais velho, mais seco e lignificado que nos estudos onde o pasto foi roçado antes do início da estação de crescimento.

A densidade volumétrica da pastagem se dá em função da altura e da massa de forragem. A altura foi padronizada a 1 m, consequentemente, a densidade volumétrica seguiu o mesmo padrão da massa de forragem. Com valores se assemelhando aos encontrados em estudos onde a pastagem era manejada em dias fixos. Valores da ordem de 74 e 98 kg MS ha^{-1} cm^{-1} foram relatados por Voltolini (2003) e Martinez (2004), respectivamente. Contrariamente, quando a pastagem foi manejada seguindo a interceptação luminosa Voltolini (2006) e Carareto (2007) encontraram 63,29 e 60,03 kg MS ha^{-1} cm^{-1}, respectivamente. Novamente, a característica do resíduo pós-pastejo pode ser determinante nesses valores. Mais importante do que a densidade da planta toda, provavelmente é a densidade do extrato pastejável pelos animais, ou seja, da massa de folhas acima do resíduo.

Os dados referentes à composição botânica da pastagem estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Composição botânica do dossel forrageiro

Item	Período 1	Período 2
Folha, (%)	31,53	29,46
Colmo, (%)	49,82	56,66
Material Senescido, (%)	18,65	13,88

Ao analisar os números apresentados na Tabela 9, pode-se perceber comportamento dos dados similar aos de massa de forragem. Ou seja, os valores referentes às proporções de folha e colmo se assemelham muito mais aos encontrados quando a pastagem era manejada com dias fixos de intervalo de desfolhas comparado com o manejo pela interceptação luminosa. Nos trabalhos de Voltolini (2003) e Martinez (2004), respectivamente, os valores foram respectivamente de 33,93 e 33,70 % de folhas e 65,55 e 56,10 % de colmos. Contrariamente, quando a forragem foi manejada de acordo com a interceptação luminosa, Voltolini (2006) e Carareto (2007) relataram 53,00 e 54,36 % de folhas e 41,91 e 40,93 % de colmos, respectivamente. Mais uma vez, assim como para a produção de MF, a estrutura do resíduo, condicionada pelo

manejo anterior do pasto, pode estar sendo o fator determinante nas diferenças de valores entre esses estudos.

Outro fator que pode ter afetado a composição morfológica dos pastos foram as condições climáticas vigentes. O clima do mês de Janeiro do ano de 2007 foi atípico, como pode ser observado na Tabela 4, pois apresentou insolação (horas dia^{-1}) cerca de 40% menor que a média histórica dos últimos 87 anos (3,8 contra 6,20). A precipitação pluviométrica foi aproximadamente 15% maior que a média do mesmo período.

Plantas forrageiras cultivadas sob sombreamento apresentam aumento linear do caule, com o intuito de compensar a deficiência de luz (CASTRO et al., 1997). Segundo Dias Filho (2000), a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu é capaz realizar rápidos ajustes fenotípicos em resposta ao sombreamento. Dentre elas uma maior alocação de biomassa no colmo. O sombreamento também faz com que a planta aumente a taxa e a duração do elongamento da folha (CASTRO et al., 1997; BAHMANI et al., 2000).

A proporção média de folhas de 30,5% na MF média de 11,36 ton, resultou em massa de folhas média de 3465 kg de MS ha^{-1}, valor muito próximo ao obtido por Voltolini (2006) e Carareto (2007) com MF total ao redor de 6,2 ton MS ha^{-1}. Andreucci (2007) conduziu estudo no mesmo período e no mesmo sistema de produção, cujo objetivo foi avaliar as perdas de nitrogênio de diferentes fontes. A massa de folhas colhida acima de 40 cm foi em média de 3,41 T MS ha^{-1}.

Com base no exposto acima, a oferta total de forragem e em especial a oferta de massa seca de folhas para os animais foi alta e não deve ter sido fator de restritivo ao consumo de forragem pelos animais, de acordo com os dados revisados por Bargo et al. (2003).

A composição bromatológica da pastagem (amostra de pastejo simulado) pode ser visualizada na Tabela 9. A composição bromatológica das amostras de pastejo simulado ou do extrato pastejavel pelo animal é uma variável pouco afetada pelo intervalo de desfolha da pastagem. Os valores obtidos com diferentes manejos (intervalo de desfolha fixo *versus* variável) na mesma área experimental, têm se mostrado muito parecidos (MARTINEZ, 2004, 2008; VOLTOLINI, 2006; CARARETO, 2007). As maiores variações são encontradas no conteúdo protéico e este é influenciado em uma escala

muito maior pela dose de nitrogênio aplicada do que pelo manejo da pastagem (CORSI, 1994; SANTOS et al., 2007).

Tabela 10 - Composição bromatológica das amostras de pasto simulado

Componente (% MS)	Período 1	Período 2
Matéria Seca	21,43	21,58
Proteína Bruta	21,32	22,70
Extrato Etéreo	2,98	2,95
Fibra em Detergente Neutro	65,62	67,02
Fibra em Detergente Ácido	34,53	34,64
Nitrogênio insolúvel em FDN	35,21	37,04
Nitrogênio insolúvel em FDA	7,25	7,45
Lignina	3,28	2,85
DIVMS	68,73	73,98
DIVMO	75,58	74,25

DIVMS: Digestibilidade *in vitro* da matéria seca; DIVMO: Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica

Em função da dose de N aplicada e do intervalo de desfolha adequado, a forragem teoricamente colhida pelo animal apresentou alto teor protéico, e boa digestibilidade da MS.

4.2 Produção e composição de leite

4.2.1 Produção de leite

Os dados de produção e composição de leite estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Produção e composição de leite de vacas leiteiras, mantidas em pasto tropical de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameroon), suplementadas ou não com HMBi

Variável	Tratamento		EPM	P
	Controle	HMBi		
Produção de Leite, kg.dia^{-1}	16,20	16,49	0,421	0,3811
Produção de Leite, 3,5% Gordura, kg.dia^{-1}	16,34	16,61	0,413	0,4070
Gordura, %	3,57	3,57	0,074	0,9504
Proteína, %	3,12	3,13	0,042	0,3052
Lactose, %	4,30	4,32	0,040	0,1747
Sólidos Totais, %	11,82	11,88	0,130	0,4565
Extrato Seco Desengordurado, %	8,26	8,31	0,077	0,0541
Nitrogênio Uréico no Leite, mg dL^{-1}	11,31	11,53	0,307	0,2325
Contagem de Células Somáticas, (x mil mL^{-1})	145,40	138, 26	0,174	0,0620

Não houve efeito da suplementação com HMBi (P>0,05) na produção de leite ou na produção de leite corrigido para gordura. A suplementação com HMBi não tem se mostrado efetiva em aumentar a produção de leite. Dos 6 trabalhos compilados na Tabela 3, em apenas 1 trabalho foi relatado efeito positivo do HMBi na produção de leite. Nesses 6 trabalhos a produção diária de leite ficou entre 25 a 42 kg vaca^{-1}. A ausência de resposta de vacas mantidas em pastagens, com produções diárias de 16,3 kg de leite como no presente estudo está de acordo com os dados revisados.

Armentano et al. (1997), suplementaram vacas HPB em início de lactação com metionina e/ou lisina protegidas da degradação ruminal. As vacas produziram em média 41,5 kg e não responderam à suplementação com aminoácidos.

Misciattelli et al. (2003) também não observaram efeito da suplementação com metionina e /ou lisina protegidas para vacas alimentadas com dietas com diferentes fontes de forragem (silagem de milho ou de capim) e, conseqüentemente, diferentes quantidades de aminoácidos chegando ao intestino delgado. O mesmo foi observado por Girard et al. (2005) que formularam uma dieta deficiente em metionina (70% de

predito pelo NRC, 2001) com o intuito de avaliar a suplementação com doses crescente de ácido fólico, com ou sem a adição de metionina protegida.

Diversos trabalhos foram publicados no *Journal of Dairy Science* nos últimos 20 anos, com resultados de pesquisas sobre a suplementação de vacas em lactação com metionina protegida da degradação ruminal. A grande maioria dos trabalhos não observou efeito da suplementação com este aminoácido sobre a produção de leite. (GUINARD; RULQUIN, 1995; OVERTON et al., 1996; RULQUIN; DELABY, 1997; ROBINSON et al., 1998; BLUM et al., 1999; VANHATALO et al., 1999; BERTHIAUME et al., 2001; NOFTSGER; ST-PIERRE, 2003; CHUNG et al., 2006).

Comparando a adição de metionina protegida (DL-Met) ou seus análogos (HMB ou HMBi) em uma dieta ligeiramente deficiente neste aminoácido (1,8 % da PM), Noftsger et al. (2005) não observaram efeito positivo da suplementação. Entretanto, no tratamento em que se utilizou DL-Met foi verificada tendência (P=0,06) de diminuição da produção de leite. Estes autores obtiveram, neste estudo, produções médias de 38,5; 38,0; 38,3 e 35,8 kg dia^{-1} de leite para os tratamentos controle, HMB, HMBi e DL-Met, respectivamente. Em um estudo semelhante, Rulquin et al. (2006) também não observaram efeito da suplementação na produção de leite.

No âmbito nacional a literatura não traz muitos trabalhos relacionados à suplementação com aminoácidos para vacas leiteiras. Sancanari et al. (2001) utilizaram vacas holandesas confinadas, suplementadas ou não com metionina protegida ou não protegida da degradação ruminal, e não observaram efeito da suplementação na produção de leite.

A literatura ainda é restrita no tocante ao uso de HMBi. No único trabalho revisado onde houve efeito positivo na produção de leite, St-Pierre e Sylvester (2005) suplementaram vacas holandesas em início de lactação com 0,1% HMB, 0,15% HMBi ou 0,045% HMB mais 0,15% HMBi, (% de MS). A dieta controle continha 6,81% de lisina e 1,80% de metionina (% da PM). As vacas que foram suplementadas com o HMBi apresentaram considerável aumento (P=0,04) na produção de leite, cerca de 2,9 kg dia^{-1}, quando comparadas as do grupo controle.

Estudos mostraram que a metionina é mais limitante no início da lactação (SCHWAB et al., 1992; SANCANARI et al., 2001; SOCHA et al., 2008). Uma das

explicações para a ausência de efeito sobre a produção de leite, no presente estudo, além da produção de leite, pode também ter sido o estágio de lactação, uma vez que 46% das vacas utilizadas estavam no final da lactação. Entretanto, mesmo as vacas em início de lactação (36%) não apresentaram resultados positivos.

A produção de leite nos dois períodos experimentais está ilustrada na Figura 3. Pode-se perceber uma brusca queda na produção de leite no segundo período, provavelmente devido a fatores ambientais, tais como condições precárias dos corredores e áreas de sombra, em função das chuvas intensas em janeiro e estresse causado pelo aumento da insolação em fevereiro. Associado a esses fatores, soma-se a queda normal na curva de lactação com o passar do tempo.

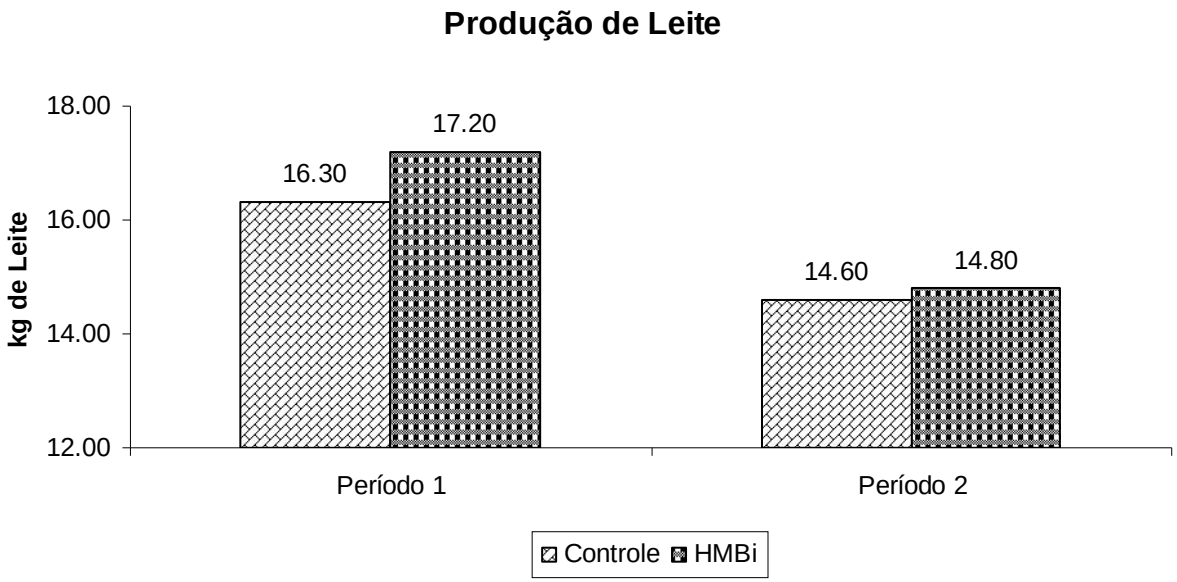

Figura 3 - Média diária de produção de leite de vacas leiteiras, mantidas em pasto tropical de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameroon), suplementadas ou não com o éster do análogo de metionina (HMBi)

4.2.2 Teor de gordura

A produção de gordura do leite não foi alterada com a inclusão do HMBi na dieta de vacas leiteiras, como pode ser observado na Tabela 11. De acordo com os dados, 50% do HMBi é degradado pelos microrganismos ruminais, tornando-se uma fonte de metionina para os mesmos (GRAULET et al., 2005) o que pode provocar uma alteração no ecossistema microbiano ruminal, alterando a digestibilidade do FDN (NOFTSGER et al., 2005).

Alguns estudos das décadas de 70-80 mostraram resultado positivo da suplementação de HMB sobre a produção de gordura (PATTON et al., 1970; HOLTER et al., 1972; LUNDQUIST et al., 1983; HUBER et al., 1984). Dos 6 trabalhos recentes com HMBi compilados na Tabela 3, o teor de gordura do leite foi aumentado em 3 (NOFTSGER et al., 2005; ST-PIERRE; SYLVESTER, 2005; RULQUIN et al., 2006), não afetado em 2 (HINDLE et al., 2006; JURJANZ et al., 2006) e reduzido em 1 (STRZETELSKI et al., 2006). O efeito negativo ocorreu no único trabalho com vacas produzido abaixo de 30 kg de leite.

St-Pierre e Sylvester (2005) trabalharam com vacas Holandesas suplementadas ou não com HMB e/ou HMBi e verificaram aumento na produção diária de gordura de 218 g ($P<0,001$) para as vacas que receberam HMBi. Porém, esse aumento na produção de gordura pode estar mais relacionado ao aumento na produção de leite (2,5 L a mais, na mesma comparação $P=0,04$) do que ao aumento na percentagem de gordura, o qual foi apenas de 0,21% ($P=0,19$). Já nas vacas suplementadas com o HMB não foi observado nenhuma mudança quanto à produção e teor de gordura do leite.

No caso de suplementação com o próprio aminoácido (metionina), seja por meio de infusão pós ruminal ou por meio de proteção contra a degradação ruminal, os dados são inconsistentes. Algumas pesquisas apresentaram resultados positivos, em que a inclusão de metionina proporcionou aumento na produção e/ou percentagem de gordura no leite de vacas leiteiras (VARVIKKO et al., 1999; BESTER et al., 2006; BRODERICK et al., 2006). No entanto, em diversos outros esse efeito foi ausente

(BERTHIAUME et al., 2001, 2006; GIRARD et al., 2005; NOFTSGER et al., 2005; SOCHA et al., 2005; STRZETELSK et al., 2006).

4.2.3 Teor de proteína

A inclusão do HMBi na dieta das vacas, nas condições deste experimento, não aumentou o teor de proteína do leite (Tabela 11).

A produção de proteína no leite se dá em função do suprimento de aminoácidos absorvidos no intestino delgado que chegam à glândula mamária (DOEPEL et al., 2004; LAPIERRE et al., 2006a, b; SCHWAB et al., 2006). Porém, não só a quantidade de aminoácidos é importante, mas também seu correto balanceamento, em especial no tocante à lisina e metionina, que são os primeiros aminoácidos limitantes para a produção de proteína do leite (NRC, 2001; SCHWAB et al., 1992).

O fornecimento destes aminoácidos em proporções ideais aumenta a eficiência de utilização da proteína metabolizável, podendo aumentar a produção de proteína do leite. Assim, o balanceamento de dietas com menores teores de proteína bruta e consequentemente com uma menor descarga de nitrogênio no ambiente, sem afetar negativamente a produção e composição do leite poderia ser possível (DINN et al., 1998). Piepenbrink et al. (1996), sugeriram que outros nutrientes além de lisina e metionina podem ser co-limitantes ou até mesmo mais limitantes que estes aminoácidos para a síntese de leite e de proteína do leite, quando compararam o desempenho lactacional de vacas alimentadas com dieta contendo 18% de proteína bruta contra 14% de proteína, suplementadas com lisina e metionina protegida. Leonardi et al. (2003) sugeriram que dietas com baixo teor de proteína (16,1 vs. 18,8% PB) aumentam a eficiência da utilização da proteína dietética, mantendo a mesma produção de leite; e que a metionina suplementar resulta em aumento no teor de proteína do leite, especialmente para dietas ricas em farelo de soja.

Com o objetivo de aumentar a produção e/ou melhorar a composição de leite diversos estudos foram realizados com a suplementação com lisina e metionina, em suas variadas formas: o próprio aminoácido com alguma forma de proteção, infusões pós-ruminal, ou no caso da metionina, seus análogos.

Em revisão da literatura publicada, buscou-se estudos em que foi avaliada a suplementação de vacas leiteiras com metionina protegida. Ficou evidenciado o efeito positivo na produção e/ou teor de proteína do leite (COLIN-SCHOELLEN et al., 1995; ARMENTANO et al., 1997; NICHOLS et al., 1998; LEONARDI et al., 2003; MISCIATTELLI et al., 2003; NOFTSGER et al., 2003, 2005; GIRARD et al., 2005; BENEFIELD et al., 2006; BRODERICK et al., 2006; RULQUIN et al., 2006; STRZETELSKI et al., 2006; EMANUELE et al., 2007). A ausência deste efeito foi reportada por Munneke et al. (1991) e Polan et al. (1991).

Com relação ao uso de HMBi, nos 6 trabalhos compilados na Tabela 3 ficou evidente que o uso de HMBi foi eficaz em fornecer metionina para a produção de proteína do leite (NOFTSGER et al., 2005; ST-PIERRE; SYLVESTER, 2005; HINDLE et al., 2006; JURJANZ et al., 2006; RULQUIN et al., 2006). Apenas Strzetelski et al. (2006) não observaram efeito na proteína do leite, corroborando com o presente estudo. Assim como no presente estudo, a produção diária de leite das vacas no trabalho de Strzetelski et al. (2006) foi inferior a 30 kg. É provável que nessa condição a dieta controle tenha suprido mais que 100% do requerimento em lisina e metionina para as vacas e que vacas de menores produções consigam manter a produção de leite, mesmo com relação Lis:Met até certo ponto desbalanceada.

4.2.4 Teor de lactose

A lactose, por ser um dos principais reguladores osmóticos do leite, é um dos componentes do leite bovino que sofre menor variação. Qualquer aumento na sua produção é compensado por um maior aporte de água da corrente sanguínea para a glândula mamária. É um dissacarídeo formado por uma molécula de glicose e outra de galactose, uma ligação beta entre o carbono um da galactose e o carbono quatro da glicose as une (BERG et al., 2004; FOX; MCSWEENEY, 1998). A síntese de lactose parece estar mais relacionada ao teor de energia do que ao de proteína na dieta de ruminantes. Entretanto, a produção de proteína metabolizável está estreitamente relacionada com o aporte de energia líquida para lactação (DOEPEL et al., 2004), o que

indiretamente relaciona proteína e lactose. Por outro lado, a síntese de glicose hepática, via gliconeogênese, se dá a partir de dois precursores distintos a oxidação do proprionato ou de aminoácidos glicogênicos, grupo do qual a metionina faz parte. Por essa razão acredita-se que a suplementação com metionina possa afetar a síntese de lactose.

Nas condições deste estudo a síntese de lactose não foi alterada com a inclusão do HMBi na dieta de vacas leiteiras (Tabela 11).

Em estudo realizado pela equipe da Ohio State University (ST-PIERRE; SYLVESTRE, 2005), avaliou-se a inclusão de HMB e/ou HMBi na dieta de vacas leiteiras, não sendo observado efeito da suplementação na concentração de lactose no leite. Um efeito relativo à produção total de lactose foi observado tanto para o HMB (p=0,04) quanto para o HMBi (p=0,001). Em outro estudo realizado pela mesma equipe (NOFTSGER et al., 2005) a produção de lactose foi numericamente menor para os animais suplementados em relação ao grupo controle (1,89; 1,87; 1,87; 1,71 $kg.d^{-1}$**,** respectivamente para controle, HMB, HMBi e $_{DL}$-Metionina, p=0,07).

Quando a metionina foi infundida após o rúmen (abomaso ou intestino delgado) ou suplementada na forma protegida da degradação ruminal, também não foram observados efeitos em relação à produção ou teor de lactose do leite (MUNNEKE et al., 1991; PISULEWSKI et al., 1996; VARVIKKO et al., 1999; MISCIATTELLI et al., 2003; GIRARD et al., 2005).

4.2.5 Teor de nitrogênio uréico no leite

O teor de nitrogênio uréico no leite não foi alterado com a inclusão do HMBi na dieta de vacas leiteiras nas condições deste experimento (Tabela 11). O nitrogênio uréico do leite é formado basicamente por produtos finais da digestão e pelo catabolismo de aminoácidos. O excesso de proteína degradável no rúmen resulta em grande quantidade de amônia sendo absorvida na corrente sanguínea e convertida em uréia no fígado. Por outro lado o excesso de proteína metabolizável no intestino, assim

como proteína metabolizável com perfil inadequado de aminoácidos aumentam o catabolismo hepático dos mesmos (DEPETERS; FERGUSON, 1992).

O correto balanceamento da dieta de vacas leiteiras relativo aos níveis de carboidratos degradáveis no rúmen e das frações protéicas solúvel, degradável e não degradável no rúmen pode ser expresso através do conteúdo de uréia no leite, (MACHADO; CASSOLI, 2007). Assim, o teor de uréia no leite também pode ser um indicador do status nutricional do rebanho (DEPETERS; FERGUSON, 1992).

Machado e Cassoli (2007) sugeriram que para vacas produzindo leite com teores de 3,0 a 3,2 % de proteína bruta, a concentração de nitrogênio uréico no leite deve ficar em torno de 10 a 14 $mg.dL^{-1}$. Concentrações acima desse valor podem ser resultado de dietas com excesso de proteína solúvel e degradável no rúmen, ao passo que valores abaixo indicam dietas com baixos teores de proteína solúvel, degradável ou de proteína não degradável.

Os valores ao redor de 11 $mg.dL^{-1}$ observados no presente estudo estão dentro da faixa normal sugerida pelos autores acima. Entretanto, valores mais altos eram esperados uma vez que o teor de proteína bruta da ração total consumida pelas vacas foi alto. O pasto apresentou 22% de PB e o concentrado 18%. Dietas com estes teores de PB normalmente resultam em teores excessivos de N-uréico no leite de vacas confinadas com produções acima de 30 kg de leite. O consumo de MS de vacas produzindo 16,3 kg de leite como no presente estudo é bem inferior ao de vacas confinadas com altas produções de leite. Nesse caso, o consumo total de PB mesmo que em excesso para a produção de leite obtida, não seria suficiente para atingir valores elevados no leite. Caso isto esteja correto, os valores sugeridos por Machado e Cassoli (2007) não seriam adequados para monitorar a adequação protéica de dietas de vacas em pasto com produções inferiores a 20 kg de leite por dia. Quando o NRC (2001) e o CNCPS v. 5.0 foram utilizados para avaliar a ração total consumida pelas vacas, assumindo consumo de pasto suficiente para atingir a produção de leite observada, ambos os sistemas indicaram excesso tanto de PDR quanto de proteína metabolizável consumidas pelas vacas.

Os compostos encontrados na fração nitrogênio não Protéico (NNP) do leite são semelhantes aos encontrados na urina, sugerindo que a maior parte sejam produtos

finais do metabolismo do nitrogênio (N) (DEPETERS; FERGUSON, 1992; FOX; MCSWEENEY, 1998). Conseqüentemente, pode-se estimar a excreção de N ao ambiente através da concentração de NNP no leite.

A preocupação com questões ambientais tem levado ao aumento no número de trabalhos de pesquisa conduzidos com o intuito de reduzir a perda de nitrogênio, com conseqüente contaminação do ambiente por vacas leiteiras. Uma das formas de se conseguir esse efeito é o correto balanceamento de aminoácidos da dieta, o que diminuiria seu catabolismo e ao mesmo tempo permitiria uma redução da quantidade de proteína bruta da dieta sem que, no entanto, a produção de leite fosse afetada. Neste sentido, Leonardi et al. (2003) conduziram estudo onde a hipótese era que dietas balanceadas com baixo teor de proteína, mas suplementadas com metionina, suportariam produções de leite tão altas quanto dietas contendo alto teor de proteína sem a adição do aminoácido. Hipótese esta que foi confirmada através dos resultados, onde as vacas produziram a mesma quantidade de leite, entretanto reduziram significativamente a excreção de uréia no leite. Resultados semelhantes foram encontrados por St-Pierre e Sylvester (2005) que avaliaram a inclusão de HMBi na dieta de vacas leiteiras e observaram efeito significativo (p=0,01) na redução da excreção de nitrogênio uréico no leite.

Entretanto, a literatura não é unânime. Diversos trabalhos avaliando a inclusão de metionina na forma de ésteres análogos, infusão pós ruminal ou administração sob forma protegida não encontraram efeitos significativos com relação à redução da excreção de uréia no leite (GIRARD et al., 2005; NICHOLS et al., 1998; NOFTSGER; ST-PIERRE, 2003; NOFTSGER et al., 2005; PISULEWSKI et al., 1996; RULQUIN et al., 2006; VARVIKKO et al.,1999).

A redução no teor de uréia no leite devido ao balanceamento de aminoácidos é mais provável de ocorrer quando, concomitante ao balanceamento de lisina e metionina, o teor de PB da dieta é reduzido.

4.2.6 Contagem de células somáticas no leite

A contagem de células somáticas no leite foi baixa para ambos os tratamentos. Apesar do menor valor (P=0,0620) no leite das vacas suplementadas com HMBi, as diferenças não são relevantes biológicamente (145,4 x 138,26 mil células). A contagem de células somáticas no leite é um bom indicador da saúde da glândula mamária (VAZ, 2006; MÜLLER, 2002).

A metionina é um aminoácido essencial que participa da formação da cisteína, um aminoácido não essencial. A cisteína é componente ativo da enzima Glutationa Peroxidase, um dos mais importantes antioxidantes presentes no organismo dos mamíferos. Sendo assim, espera-se que animais com um adequado suprimento de metionina tenha um melhor *status* de saúde.

Rogers et al. (1989) e Polan et al. (1991) suplementaram vacas de diversos rebanhos dos Estados Unidos com metionina e lisina protegidas, mas não observaram efeito da suplementação em melhorar a saúde ou o desempenho reprodutivo dos animais.

Em seu estudo, Soder e Holden (1999) verificaram que a suplementação com 30 g dia^{-1} de metionina protegida aumentou a resposta proliferativa dos linfócitos “T” em vacas no meio da lactação, sem alterar a população de células mononucleares no sangue periférico ou leite. Estes autores sugeriram que vacas no período periparto teriam grandes chances de apresentarem resultados positivos à suplementação, visto que este período é caracterizado por uma imunossupressão e com uma aumentada susceptibilidade à mastite.

No presente estudo a contagem de células somáticas foi baixa já no tratamento controle. Nesse caso seria pouco provável que a suplementação com HMBi pudesse trazer melhoras significativas na saúde da glândula mamaria.

4.2.7 Desempenho de diferentes grupos raciais

Os dados de produção e composição de leite por grupo racial são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Produção e composição de leite de vacas da raça Holandesa (HPB) e ½ Sangue (HPB x Jersey), mantidas em pasto tropical de capim Elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameroon)

Variável	Tratamento		EPM	P
	HPB	½ Sangue		
Produção de Leite, kg.dia^{-1}	16,92	15,77	0,513	0,1530
Produção de Leite, 3,5% Gordura, kg.dia^{-1}	16,74	16,21	0,504	0,4983
Gordura, %	3,46	3,68	0,103	0,1352
Proteína, %	3,02	3,23	0,055	0,0220
Lactose, %	4,28	4,34	0,051	0,4514
Sólidos Totais, %	11,56	12,14	0,166	0,0301
Extrato Seco Desengordurado, %	8,10	8,46	0,101	0,0265
Nitrogênio Uréico no Leite, mg dL^{-1}	11,58	11,26	0,390	0,6015
Contagem de Células Somáticas, (x mil mL^{-1})	183,23	109,72	0,229	0,1532

Vacas cruzadas produziram leite com maior teor de proteína, sólidos totais e extrato seco desengordurado ($P<0,05$), sem diferença estatística para os demais parâmetros de desempenho.

Heins et al. (2008) utilizou o cruzamento entre as mesmas raças, comparando-as com vacas HPB puras, na primeira lactação. As vacas cruzadas produziram menos leite e menos proteína, porém a produção de gordura foi estatisticamente igual entre os grupos. Heins et al. (2006) compararam vacas holandesas puras (HPB) com vacas cruzadas com Normando (HPB-N), Montbeliarde (HPB-M) e Vermelha Escandinava (HPB-V). As vacas HPB produziram mais leite (305-d) e mais proteína. Entretanto, para a produção de gordura não foi encontrada diferença estatística entre HPB e HPB-V. A produção de gordura mais proteína foi 2% menor para as vacas HPB-V, quando comparado com as HPB, porém esta diferença não foi significativa.

VanRaden e Sanders (2003) relataram que a vacas HPB produziram mais leite que as cruzadas com Pardo-Suiço ou Jersey. Entretanto, a produção de gordura e proteína foi semelhante para os três grupos genéticos.

As vacas cruzadas apresentam vantagens em relação as HPB puras, apesar de produzirem uma quantidade de leite um pouco menor. O menor tamanho corpóreo com conseqüente menor gasto energético com a mantença e a produção de leite com um maior teor de sólidos as tornam mais eficientes, podendo produzir uma quantidade maior de proteína por área.

4.2.8 Simulações para estimar consumo de forragem e fluxo de AA no Intestino

Com o objetivo estimar o consumo de forragem e o fluxo de aminoácidos para o intestino dos animais, foram realizadas simulações utilizando-se o programa computacional do NRC (2001). O programa foi alimentado com os dados reais de produção e composição de leite, consumo de concentrado, peso corporal, estágio de lactação, ordem de parição, etc. tanto para a vaca média HPB como para a vaca média cruzada (Tabela 13). O consumo de pasto foi estimado como a quantidade necessária para atingir a produção de leite real observada no experimento.

De acordo com a simulação feita no NRC (2001) a suplementação com HMBi aumentou o fluxo de Met para o intestino e melhorou a relação Lis:Met, de 3,53 para 3,16.

Também de acordo com a simulação, a produção de gordura e proteína por área de pasto, seria maior em rebanhos com vacas ½ HBP ½ Jersey em comparação com vacas HPB. Além disso o custo com alimentação para essa produção seria menor em função da maior eficiência dessas vacas em converterem pasto e concentrado em sólidos do leite.

Tabela 13 - Consumo de forragem, Eficiência e relação Lis:Met

Item	HPB	½ sangue
Peso corporal,kg	545	415
Produção de leite, kg	16,8	15,1
Consumo de Concentrado, (kg MS dia^{-1})	6,20	5,48
Consumo estimado de pasto, (kg MS dia^{-1})	7,00	6,25
Consumo total (kg MS dia^{-1})	13,02	11,73
Relação Leite:Concentrado, (kg:kg MS)	2,71	2,76
Gordura + proteína, kg	1,087	1,057
Eficiência, (G+P)/kg concentrado	0,175	0,193
Eficiência, (G+P)/CMS total	0,0835	0,0901
Gordura + proteína, kg ha^{-1} *	2795	3044
- HMBI		
Lis, % PM	6,42	6,39
Met, % PM	1,82	1,82
Relação Lis:Met	3,53	3,50
+ HMBI		
Lis, % PM	6,41	6,38
Met, % PM	2,03	2,02
Relação Lis:Met	3,16	3,16

*produção do pasto estimada em 18 ton de MS por 210 dias.

5 CONCLUSÕES

Vacas mantidas em pastagens tropicais com alto teor em PB, no terço médio e final de lactação, com produções ao redor de 16,3 kg de leite não respondem à suplementação com fonte de Metionina protegida (HMBi).

Animais cruzados HPB x Jersey são mais eficientes em converter alimento em sólidos do leite, quando mantidos em pastagens tropicais e suplementados com concentrado.

REFERÊNCIAS

AHLBORN-BREIER, G.; HOHENBOKEN, W.D. Additive and nonadditive genetic effects on milk production in dairy cattle: Evidence for major individual heterosis. **Journal of Dairy Science,** Albany, v.74, p. 592-602, 1991.

ALVIM, M.J.; VILELA, D.; LOPES, R.S. Efeito de dois níveis de concentrado sobre a produção de leite em vacas da raça Holandesa em pastagem de *Coast-cross*. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v.26, n.5, p.967-975, 1997.

ANDREUCCI, M.P. **Perdas nitrogenadas e recuperação aparente de nitrogênio em fontes de adubação de capim elefante.** 2007. 102 p. (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

ARMENTANO, L.E.; BERTICS, S.J.; DUCHARME, G.A. Lactational responses to rumen protected methionine or methionine with lysine, in diets based on alfalfa haylage. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 78, suppl. 1, p. 202-202, 1993. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1993, Maryland.

_____. Response of lactating cows to methionine or methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 80, p.1194-1199, 1997.

BAHMANI, I.; HAZARD, L.; VARLET-GRANCHER, C.; BETIN, M.; LEMAIRE, G.; MATTHEW, C.; THOM, E.R. Differences in tillering of long- and short-leaned perennial ryegrass genetic lines under full light and shade treatments. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1095-1102, 2000.

BALSALOBRE, M.A.A. **Desempenho das vacas em lactação sob pastejo rotacionado de capim-elefante (Pennisetum purpureum Schum.).** 1996 139 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

BARBOSA, R.A.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES,V.P.B.; DA SILVA, S.C.; ZIMMER, A.H.; TORRES JÚNIOR, R.A.A. Capim-tanzânia submetido a combinações entre intensidade e freqüência de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 3, p. 329-340, 2007.

BARGO, F.; MULLER, L.D..; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. Production and digestión of supplemented dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 86, p.1-42, 2003.

BENEFIELD, B.C.; PATTON, R.A.; STEVENSON, M.J.; OVERTON, T.R. Evaluation of rumen-protected methionine (RP-Met) sources and period length on performance of lactating dairy cows within Latin squares. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 89, suppl. 1, p. 76-76, 2006. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2006, Minneapolis.

BENTLEY INSTRUMENTS. **Bentley 2000 operator's manual.** Chaska, 1995a. 77 p.

_____. **Somacount 300 operator's manual.** Chaska, 1995b. 12 p.

BERTHIAUME, R.; LAPIERRE, H.; STEVENSON, M.; COTÉ, M. ; McBRIDE, B.W. Comparison of the in situ and in vivo intestinal disappearance of ruminally protected methionine. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 83, p. 2049-2056, 2000.

BERG, J.M.; TYMOCZKO, J.L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 1059 p.

BERTHIAUME, R.; DUBREUIL, P.; STEVENSON, M.; McBRIDE, B.W.; LAPIERRE, H. Intestinal disappearance and mesenteric and portal appearance of amino acids in dairy cows fed ruminally protected methionine. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 84, p. 194-203, 2001.

BERTHIAUME, R.; THIVIERGE, M.C.; PATTON, R.A.; DUBREULL, P.; STEVENSON, M.; McBRIDE, B.W.; LAPIERRE, H. Effect of ruminally protected methionine on splanchnic metabolism of amino acid in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 89, p. 1621-1634, 2006.

BESTER, Z.; ERASMUS, L.J.; COERTZE, R.J. 2006. Milk composition as a technique to evaluate the relative bio-availability of rumen protected methionine sources. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 89, suppl. 1, p. 76-76, 2006. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2006, Minneapolis.

BLUM, J.W.; BRUCKMAIER, R.M.; JANS, F. Rumen-protected methionine fed to dairy cows: Bioavailability and effects on plasma amino acid pattern and plasma metabolite and insulin concentrations. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 82, p. 1991-1998, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Serviço Nacional de Pesquisa Agronômica. Comissão de solos. **Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado de São Paulo**. Rio de Janeiro, 1960. 634 p.

BRODERICK, G.A.; KOWALCZYK, T.; SATTER, L.D. Milk production response to supplementation with encapsulated methionine per Os or casein per abomasum. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 53, p. 1714-1721, 1970.

BRODERICK, G.A.; STEVENSON, M.J.; PATTON, R.A. Effect of dietary crude protein, rumen-undegraded protein and rumen-protected methionine on milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 89, suppl. 1, p. 402-402, 2006. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2006, Minneapolis.

BRYANT, J.R.; LÓPEZ-VILLALOBOS, N.; PRYCE, J.E. ; HOLMES, C.W. ; JOHNSON, D.L. ; GARRICK, D.J. Effect of environment on the expression of breed and heterosis effects for production traits. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 90, p. 1548-1553, 2007.

CAMARGO, A.C. Produção de leite a pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 13., 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1996. p. 16-34.

_____. Características da produção de leite na agricultura familiar. IN: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 29-42.

CAMPOS, F.P.; BITTAR, C.M.M.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análise de alimentos.** Piracicaba: FEALQ, 2004. 135 p.

CARARETO, R. **Uso da uréia de liberação lenta para vacas alimentadas com silagem de milho ou pastagens de capim Elefante manejadas com intervalos fixos ou variáveis de desfolha.** 2007. 113 p. (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

CARNEVALLI, R.A.; DA SILVA, S.C; BUENO, A.A.O.; UEBELE, M.C.; BUENO, F.O.; HODGSON, J.; SILVA, G.N.; MORAIS, J.P.G.. Herbage production and grazing losses in *Panicum maximum* cv. Mombaça under four grazing managements. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v. 40, n. 3, p. 165 -176, 2006.

CASTRO, C.R.T.; CARVALHO, M.M.; GARCIA, R. Produção de forragem de capins do gênero *Panicum* e modelagem de respostas produtivas e morfofisiológicas em função de variáveis climáticas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. p. 338-340.

CHALUPA, W. Rumen bypass and protection of proteins and amino acids. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 58, p. 1198-1218, 1975.

CHUNG, Y.H.; BATEMAN, H.G.; WILLIAMS, C.C.; STANLEY, C.C.; GANTT, D.T.; BRAUD, T.W.; SOUTHERN, L.L.; WARD, J.D.; HOYT, P.G.; SOD, G.A. Effects of methionine and lysine on fermentation in vitro and in vivo, nutrient flow to the intestine, and milk production. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 89, p. 1613-1620, 2006.

CLARK, J.H. Lactational responses to postruminal administration of proteins and amino acids. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 58, p. 1178-1197, 1975.

CLARK, J.H.; SPIRES, H.R.; DERRIG, R.G.; BENNINK, R. Milk production, nitrogen utilization and glucose synthesis in lactating cows infused postruminally with sodium caseinate and glucose. **The Journal of Nutrition.** Bethesda, v. 107, p. 631-644, 1977.

COLIN-SCHOELLEN, O.; LAURENT, F.; VIGNON, B.; ROBERT, J.C.; SLOAN, B. Interaction of ruminally protected methionine and lysine with protein source or energy level in the diets of cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 78, p. 2807-2818, 1995.

CORSI, M. Adubação nitrogenada das pastagens. In: PEIXOTO, A.M. **Pastagens:** fundamentos da exploração racional. Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 121-153.

CÓSER, A.C.; MARTINS, C.E.; FONSECA, D.M.; SALGADO, L.T.;ALVIM, M.J.; TEIXEIRA, F.V. Efeito de diferentes períodos de ocupação da pastagem de capim-elefante sobre a produção de leite. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 861-866, 1999.

Da SILVA, S.C.; NASCIMENTO JR., D. Ecofisiologia de plantas forrageiras. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3., 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2006. p. 1-42.

_____. Ecofisiologia da produção animal em pastagens e suas implicações sobre o desempenho e a produtividade de sistemas pastoris. In: SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 4., 2007, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2007. p. 1-48.

DA SILVA, S.C.; PEDREIRA, C.G.S. Fatores predisponentes e condicionantes da produção animal a pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEN, 13., 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1996. p. 319-352.

DePETERS, E.J.; FERGUSON, J.D. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 75, p. 3192-3209, 1992.

DERESZ, F.; MOZZER, O.L.; CÓSER, A.C. Manejo de pastagem do capim-elefante sob pastejo rotacionado. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 192, p. 55-61, 1998.

DERRIG, R.G.; CLARK, J.H.; DAVIS, C.L. Effect of abomasal infusion of sodium caseinate on milk yield, nitrogen utilization and amino acid nutrition of the dairy cow. **The Journal of Nutrition.** Bethesda, v. 104, p. 151-159, 1974.

DIAS-FILHO, M. B. Growth and biomass allocation of the C4 grasses *Brachiariabrizantha* and *B. humidicula* under shade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2335-2341, 2000.

DINN, N.E.; SHELFORD, J.A.; FISHER, L.J. Use of the cornell net carbohydrate and protein system and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 81, p. 229-237, 1998.

DOEPEL, L.; PACHECO, D.; KENNELLY, J.J.; HANIGAN, M.D.; LÓPEZ, I.F.; LAPIERRE, H. Milk protein synthesis as a function of amino acid supply. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 87, p. 1279-1297, 2004.

EMANUELE, S.; HICKLEY, T.; BICALHO, R.C. Effect of rumen protected choline (Reashure ®) and rumen protected methionine on milk yield, and composition in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** v. 90, suppl. 1, p. 352-353, 2007. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2007, San Antonio.

FONSECA, D.M.; SALGADO, L.T.; QUEIROZ, D.S.; CÓSER, A.C.; MARTINSM C.E.; BONJOUR, S.C.M. Produção de leite em pastagem de capim- elefante sob diferentes períodos de ocupação dos piquetes. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 27, n. 5, p. 848-856, 1998.

FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. **Dairy chemistry and biochemistry**. London: Thomson Science, 1998. 478 p.

GIRARD, C.L.; LAPIERRE, H.; MATTE, J.J.; LOBLEY, G.E. Effects of dietary suplements of folic acid and rumen-protectec methionine on lactational performance and folate metabolism of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 88, p. 660-670, 2005.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analysis**. Washington: USDA, 1970. 1 v. (Agricultural Research Service. Handbook, 379).

GRAULET, B.; RICHARD, C.; ROBERT, J.C. Methionine availability in plasma of dairy cows supplemented with methionine hydroxy analog isopropyl ester. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 88, p. 3640-3649, 2005.

GRIEL JR., L.C.; PATTON, R.A.; McCARTHY, R.D. Milk production response to feeding methionine hydroxyl analog to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 51, p. 1866-1868, 1968.

GUINARD, J.; RULQUIN, H. Effects of graded amounts of duodenal infusions of methionine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 78, p. 2196-2207, 1995.

GUYOT, T.; ROBERT, J.C.; SAUVANT, D. Meta-analysis of the influence of different sources of methionine on the milk protein content. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 87, suppl. 1, p. 162-162, 2004. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2004, St. Louis.

HEINS, B.J.; HANSEN, L.B.; SEYKORA, A.J. Production of pure Holsteins versus crossbreds of Holstein with Normande, Montbeliarde, and Scandinavian Red. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 89, p. 2799-2804, 2006.

HEINS, B.J.; HANSEN, L.B.; SEYKORA, A.J.; JOHNSON, D.G.; LINN, J.G.; ROMANO, J.E.; HAZEL, A.R. Crossbreds of Jersey x Holstein compared with pure Holsteins for production, fertility, and body and udder measurements. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 91, p. 1270-1278, 2008.

HINDLE, V.A.; KAN, C.A.; ROBERT, J.C.; VUUREN, A.M. van. Effect of the isopropylester of the hydroxylated analogue of methionine (HMBi) on feed intake and performance of dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 89, suppl. 1, p. 401-402, 2006. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2006, Minneapolis.

HOGAN, J.P. Quantitative aspects of nitrogen utilization in ruminants. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 58, p. 1198-1218, 1975.

HOLMES, C.W. Produção de leite a baixo custo em pastagens: uma análise do sistema neozelandês. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GADO LEITEIRO, 2., 1995, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1996. p. 69-96.

HOLMES, C.W.; MATHEWS, P.N.P. Feeding of conserved forage - implications to grassland management and production. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro: FEALQ, 2001. p. 671-677.

HOLTER, J.B.; KIM, C.W.; COLOVOS, N.F. Methionine hydroxy analog for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 55, p. 460-465, 1972.

HUBER, J.T.; EMERY, R.S.; BERGEN, W.G.; LIESMAN, J.S.; KUNG, L.; KING, K.J.; GARDNER, R.W.; CHECKETTS, M. Influences of methionine hydroxyl analog on milk and milk fat production, blood serum lipids, and plasma amino acids. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 67, p. 2525-2531, 1984.

JURJANZ, S.; ROBERT, J.C. ; LAURENT, F. Effects of the isopropylester of the hydroxylated analogue of methionine (HMBi) on production performance of dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 89, suppl. 1, p. 75-76, 2006. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2006, Minneapolis.

KIM, C.H.; CHOUNG, J.J.; CHAMBERLAIN, D.G. Determination of the first limiting amino acid for milk production in dairy cows consuming a diet of grass silage and cereal based supplement containing feather meal. **Journal of the Science of Food and Agriculture,** Hoboken, v. 79, p. 1703-1708, 1999.

KOCH, K.L.; WHITEHOUSE, N.L.; GARTHWAITE, B.D.; WASSERSTON, V.M.; SCHWAB, C.G. Production responses of lactating Holstein cows to rumen stable forms of lysine and methionine. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 79, suppl. 1, p. 24-24, 1996. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1996, Corvallis.

KOENIG, K.M.; RODE, L.M. Ruminal degradability, intestinal disappearance and plasma methionine response of rumen-protected methionine in dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 84, p. 1480-1487, 2001.

KOENIG, K.M.; RODE, L.M.; KNIGHT, C.D.; McCULLOUGH, P.R. Ruminal escape and subsequent absorption of Alimet in the digestive tract of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 74, suppl. 1, p. 266-266, 1996. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1996, Corvallis.

_____. Ruminal escape, gastrointestinal absorption, and response of serum methionine to supplementation of liquid methionine hydroxyl analog in dairy cows. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 82, p. 355-361, 1999.

KOENIG, K.M.; RODE, L.M.; KNIGHT, C.D.; VAZQUEZ-ANON, M. Rumen degradation and availability of various amounts of liquid methionine hydroxyl analog in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 85, p. 930-938, 2002.

KORHOHEN, M.; VANHATALO, A.; VARVIKKO, T.; HUHTANEN, P. Responses to graded post ruminal doses of histidina in dairy cows fed grass silage diets. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 83, p. 2596-2608, 2000.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes.** Santa Maria: UFSM, 2002. 140 p.

KRISTENSEN, N.B.; GÄBEL, G.; PIERZYNOWSKI, S.G.; DANFAER, A. Portal recovery of short-chaim fatty acids infused into temporarily-isolated and washed reticulo-rumen of sheep. **British Journal of Nutrition.** Cambridge, v. 84, p. 477-482, 2000.

LAPIERRE, H.; RAGGIO, G.; OULLET, D.R.; BERTHIAUME, R.; DOEPEL, L.; PACHECO, D. Beyond the rumen: understanding the biology behind amino acid balanced dairy diets. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION & MANAGEMENT CONFERENCE, 21., 2006, Tempe. **Proceedings …**Tempe: AZ, 2006a. p. 15-27.

LAPIERRE, H.; PACHECO, D.; BERTHIAUME, D.R.; OUELLET, D.R.; SCHWAB, C.G.; DUBREUIL, P.; HOLTROP, G.; LOBLEY, G.E. What is the true supply of amino acids for a dairy cow? **Journal of Dairy Science**, Albany, v.89, E. suppl., p. E1-E14, 2006b.

LEONARDI, C.; STEVENSON, M.; ARMENTANO, L.E. Effect of two levels of crude protein and methionine supplementation on performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 86, p. 4033-4042, 2003.

LOBLEY, G.E.; WESTER, T.J.; CALDER, A.G.; PARKER, D.S.; DIBNER, J.J.; VÁZQUEZ-AÑÓN, M. Absorption of 2-Hydroxy-4-methylthiobutyrate and conversion to methionine in lambs. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 89, p.1072-1080, 2006.

LOPEZ-VILLALOBOS, N.; GARRICK, D.J.; HOLMES, C.W.; BLAIR, H.T.; SPELMAN. Profitabilities of some mating systems for dairy herds in New Zealand. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 83, p. 144-153, 2000.

LUNDQUIST, R.G.; LINN, J.G.; OTTERBY, D.E. Influence of dietary energy and protein on yield and composition of milk from cows fed methionine hydroxyl analog. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 66, p. 475-491, 1983.

MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Interpretação das análises de leite visando otimização do balanceamento da dieta e manejo nutricional. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 2007, Uberlândia. **O Brasil e a nova era do mercado lácteos**: compreender para competir. Uberlândia: Impressão Gráfica Rio Pedrense, 2007. p. 177-189.

MARTINEZ, J.C. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica peletizada no concentrado de vacas leiteiras mantidas em pastagens de capim Elefante durante o outono-inverno**. 2004. 110 p. (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

_____. **Avaliação de co-produtos na alimentação de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais durante a estação chuvosa e alimentadas no cocho durante a estação seca do ano**. 2008. 354 p. (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MATOS, L.L. Produção de leite a pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE TÓPICOS ESPECIAIS EM ZOOTECNIA, 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. p. 169-193.

McALLISTER, A.J. Is crossbreeding the answer to questions of dairy breed utilization? **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 85, p. 2352-2357, 2002.

McCORMICK, M.E.; WEBB JR., K.E. Plasma free, erythrocyte free and plasma peptide amino acid exchange of calves in steady state and fasting metabolism. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 112, p. 276-282, 1982.

MEPHAM, T.B. Amino acid utilization by lactating mammary gland. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 65, p. 287-298, 1982.

MISCIATTELLI, L.; KRISTENSEN, V.F.; VESTERGAARD, M.; WEISBJERG, M.R.; SEJRSEN, K.; HVELPLUND, T. Milk production, nutrient utilization, and endocrine responses to increased postruminal lysine and methionine supply in dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 86, p. 275-286, 2003.

MÜLLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: SUL – LEITE: SIMPÓSIO SOBRE A SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM; CCA; DZO; NUPEL, 2002. p. 206-217.

MULLER, L.D.; FALLES, S.L. Supplementation of cool-season grass pastures for dairy cattle. In: CHERNEY, J.H.; CHERNEY, D.J.R. **Grass for dairy cattle.** Oxon: CAB International, 1998. p. 214-266.

MUNNEKE, R.L.; SCHINGOETHE, D.J.; CASPER, D.P. Lactationa evaluation of ruminally protected methionine in diets containing extruded soybeans and urea. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 74, p. 227-233, 1991.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Nutrient requirements of dairy cattle.** 6th ed. Washington: National Academic Press, 1978. 390 p.

_____. **Ruminant nitrogen usage.** Washington: National Academic Press, 1985. 148 p.

_____. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7th ed. Washington: National Academic Press, 2001. 408 p.

NELDER, J.A.; WEDDERBUM, R.W.M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society,** London, v. 135, p. 370-384, 1972.

NICHOLS, J.R.; SCHINGOETHE, D.J.; MAIGA, H.A.; BROUK, M.J.; PIEPENBRINK, M.S. Evaluation of corn distillers grains and ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 81, p. 482-491, 1998.

NOFTSGER, S.; St-PIERRE, N.R. Supplementation of methionine and selection of highly digestible rumen undegradable protein to improve nitrogen efficiency for milk production. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 86, p. 958-969, 2003.

NOFTSGER, S.; St-PIERRE, N.R.; SYLVESTER, J.T. Determination of rumen degradability and ruminal effects of three sources of methionine in lactating cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 88, p. 223-237, 2005.

NOFTSGER, S.M.; St-PIERRE, N.R.; KARNATI, S.K.R.; FIRKINS, J.L. Effects of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid (HMB) on microbial growth in continuous culture. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 86, p. 2629-2636, 2003.

NOZIÈRE, P.; RICHARD, C.; GRAULET, B.; DURAND, D.; RÉMOND, D. ; ROBERT, J.C. Investigation of the site of absorption and metabolism of HMBi and HMB on sheep. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 87, suppl. 1, p. 220-220, 2004. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2004, St. Louis.

O'CONNOR, J.D.; SNIFFEN, C.J.; FOX, D.G.; CHALUPA, W. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. **Journal of Animal Science,** Albany, v. 71, p. 1298-1311, 1993.

OLLEY, J.B.; ORDWAY, R.S.; WHITWHOUSE, R.S.; SCHWAB, C.G.; SLOAN, B.K. Use of changes in plasma sulphur amino acid concentrations to compare the ability of methionine (Met) products to provide absorbable Met to lactating dairy cows fed a Met-adequate diet. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 87, suppl. 1, p. 162-162, 2004. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2004, St. Louis.

OLSON, H.H.; GRUBAUGH, W.R. Effect of methionine hydroxy analog feeding on yield and composition of bovine milk. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 57, p. 695-697, 1974.

OVERTON, T.R.; LaCOUNT, D.W.; CICELA, T.M.; CLARK, J.H. Evaluation of ruminally protected methionine product for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 79, p. 631-638, 1996.

PATTON, R.A.; McCARTHY, R.D.; GRIEL, L.C. Observations on rumen fluid, blood serum and milk lipids of cows fed methionine hydroxyl analog. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 53, p. 776-780, 1970.

PENATI, M.A.; CORSI, M.; DIAS, C.T.S.; MAYA, F.L.A. Efeito do número de amostras e da relação dimensão formato da moldura sobre o coeficiente de variação na determinação da massa de forragem em pastagens de capim Tanzânia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ; SBZ, 2001. p. 46.

PIEPENBRINK, M.S.; OVERTON, T.R.; CLARK, J.H. Response of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 79, p. 1638-1646, 1996.

PISULEWSKI, P.M.; RULQUIN, H.; PEYRAUD, J.L.; VERITE, R. Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusion of increasing amounts of methionine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 79, p. 1781-1791, 1996.

POLAN, C.E.; CHANDLER, P.T.; MILLER, C.N. Methionine hydroxyl analog: Varying levels for lactating cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 53, p. 607-610, 1970.

POLAN, C.E.; CUMMINS, K.A.; MUSCATO,V.T.; SNIFFEN, C.J.; VICINI, J.L.; CROOKER, B.A.; CLARK, J.H.; JOHNSON, D.G.; OTTERBY, D.E.; GUILLAUME, B.; MULLER, L.D.; VARGA, G.A.; MURRAY, R.A.; PEIRCE-SANDNER, S.B. Responses of dairy cows to supplemental rumen-protected forms of methionine and lysine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 74, p. 2997-3013, 1991.

PURSER, D.B.; BUECHLER, S.M. Amino acid composition of rumen organisms. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 49, p. 81-84, 1966.

ROBERT, J.C.; RICHARD, C.; BOUZA, B. Influence of monomer or dimmer forms of isopropyl ester of HMB, on the supply of metabolisable methionine to the blood of ruminants. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 84, suppl. 1, p. 281-281, 2001. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2001, Indianapolis.

ROBERT, J.C.; SLOAN, B.K.; BOURDEAU, S. The effect of supplementation of corn silage plus soybean meal diets with rumen protected methionine on the lactational performance of dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 77, suppl. 1, p. 349-349, 1994. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1994, Minneapolis.

ROBERT, J.C.; SLOAN, B.K.; DENIS, C. The effect of graded amounts of rumen protected methionine on lactational responses in dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 79, suppl. 1, p. 256-256, 1996a. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1996, Corvallis.

ROBERT, J.C.; SLOAN, B.K.; NOZIÈRE, P. The effect of graded amounts of rumen protected lysine on lactational performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 79, suppl. 1, p. 257-257, 1996b. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1996, Corvallis.

ROBERT, J.C.; WILLIAMS, P.E.V.; BOUZA, B. Influence of source of methionine and protection technology on the post ruminal delivery and supply to the blood of dairy cows of an oral supply of methionine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 80, suppl. 1, p. 248-248, 1997. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1997, Nashville.

ROBERT, J.C.; BALLET, N.; RICHARD, C.; BOUZA, B. Ruminal metabolism of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid isopropyl ester (HMBi). **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 85, suppl. 1, p. 240-241, 2002a. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2002, Quebec.

_____. Influence of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid isopropyl ester (HMBi) on the digestibility of organic matter and energy value of corn silage mensured in vitro. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 85, suppl. 1, p. 240-240, 2002b. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2002, Quebec.

ROBERT, J.C.; PAQUET, S. ; RICHARD, C. ; BOUZA, B. Influence of 2-hydroxy-4 (methilthio) butanoic acid isopropyl ester (HMBi) concentration on in vitro estimated organic matter digestibility of diets varying in proportion of corn silage relative to concentrate. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 86, suppl. 1, p. 280-280, 2003. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2003, Phoenix.

ROBERT, J.C.; d'ALFONSO, T.; ETAVE, G.; DEPRES, E.; BOUZA, B. Quantifying the metabolisable methionine contribuition of a liquid or powder presentation of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid isopropyl ester (HMBi). **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 85, suppl. 1, p. 71-71, 2002c. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2002, Quebec.

ROBINSON, P.H.; CHALUPA, C.J.; SNIFFEN, C.J.; JULIEN, W.E.; SATO, H.; WATANEBE, K.; FUJIDA, T.; SUZUKI, H. Ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows fed a ration designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 81, p. 1364-1373, 1998.

ROGERS, J.A.; PEIRCE-SANDNER, S.B.; PAPAS, A.M.; POLAN, C.E.; SNIFFEN, C.J.; MUSCATO, T.V.; STAPLES, C.R.; CLARK, J.H. Production responses of dairy cows fed various amounts of rumen-protected methionine and lysine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 72, p. 1800-1817, 1989.

RULQUIN, H.; DELABY, L. Lactational responses of dairy cows to graded amounts of rumen-protected methionine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 77, suppl. 1, p. 345-345, 1994. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1994, Minneapolis.

_____. Effects of the energy balance of dairy cows on lactational responses to rumen-protected methionine. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 80, p. 2513-2522, 1997.

RULQUIN, H.; KOWALCZYK, J. Development of a method for measuring lysine and methionine bioavailability in rumen-protected products for cattle. **Journal of Animal and Feed Science,** Davis, v. 12, p. 465-474, 2003.

RULQUIN, H.; GRAULET, B.; DELABY, L.; ROBERT, J.C. Effect of different forms of methionine on lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 89, p. 4387-4394, 2006.

RULQUIN, H.; PISULEWSKI, P.M.; VÉRITÉ, R.; GUINARD, J. Milk production and composition as a function of post-ruminal lysine and methionine supply: a nutrient response approach. **Livestock Production Science,** Amsterdan, v. 37, p. 69-90, 1993.

SANCANARI, J.B.D.; EZEQUIEL, J.M.B; GALATI, R.L.; VIEIRA, P.F.; SEIXAS, J.R.C.; SANTAMARIA, M.; KRONKA, S.N. Efeito da metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção e composição do leite de vacas Holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 286-294, 2001.

SANTOS, F.A.P. Manejo dos sistemas de produção de leite a pasto. In: SUSTENTABILIDADE DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE LEITE A PASTO E EM CONFINAMENTO, 3.,2003, Juiz de Fora. **Anais…** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. 2003. p. 35-52.

_____. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal: Funep, 2006. p. 538-601.

SANTOS, F.A.P.; GRECO, L.F. Digestão pós ruminal de proteínas e exigências de aminoácidos para ruminantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES. 2007, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: USP, FZEA, 2007. p. 121-159.

SANTOS, F.A.P.; PEDROSO, A.M.P.; MARTINEZ, J.C.; PENATI, M.A.A. Utilização da suplementação com concentrado para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Anais**... Piracicaba: FEALQ. 2005. p. 219-294.

SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; GRECO, L.F.; CARARETO, R.; PENATI, M.A. Suplementação de vacas sob pastejo: considerações técnicas e econômicas visando maior rentabilidade. In: CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. (Org.). **O Brasil e a nova era do mercado lácteos**: compreender para competir / Simpósio internacional sobre produção intensiva de leite. Uberlândia: Impressão Gráfica Rio Pedrense, 2007. p. 249-300.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistics, version 9.1.3. Cary, 2003. 965 p.

SATTER, L.D.; ROFFLER, R.E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 58, p. 1219-1237, 1975.

SCHWAB, C.G.; ORDWAY, R.S.; WHITEHOUSE, N.L. The latest on amino acid feeding. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION & MANAGEMENT CONFERENCE, 21., 2006, Tempe. **Proceedings…**Tempe: AZ, 2006, p. 27-41.

SCHWAB, C.G.; SATTER, L.D.; CLAY, A.B. Response of lactating dairy cows to abomasal infusion of amino acids. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 59, p. 1254-1270, 1976.

SCHWAB, C.G.; BOZAK, C.K.; WHITEHOUSE, N.L.; MESBAH, M.M.A. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 75, p. 3486-3502, 1992.

SCHWAB, C.G.; WHITEHOUSE, N.L.; McLAUGHLIN, N.L.; KADARIYA, R.K.; St-PIERRE, N.R.; SLOAN, B.K.; GILL, R.M.; ROBERT, J.C. Use of milk protein concentrations to estimate the methionine bioavailability of two forms of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid (HMB) for lactating cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 84, suppl. 1, p. 35-35, 2001. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2001, Indianapolis.

SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 8., 2007, Uberlândia. **Anais...** Piracicaba: AgriPoint, 2007. 304 p.

SLOAN, B.K.; ROBERT, J.C.; LAVEDRINE, F. The effect of protected methionine and lysine supplementation on the performance of dairy cows in mid lactation. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 77, suppl. 1, p. 343-333, 1994. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1994, Minneapolis.

SOCHA, M.T.; SCHWAB, C.G.; PUTNAM, D.E.; WHITEHOUSE, N.L.; KIERSTEAD, N.A.; GARTHWAITE, B.D. Determining methionine requirements of dairy cows during peak lactation by post-ruminally infusing incremental amounts of methionine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 77, suppl. 1, p. 350-350, 1994a. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1994, Minneapolis.

_____. Determining methionine requirements of dairy cows during early lactation by post-ruminally infusing incremental amounts of methionine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 77, suppl. 1, p. 246-246, 1994b. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1994, Minneapolis.

_____. Determining methionine requirements of dairy cows during mid lactation by post-ruminally infusing incremental amounts of methionine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 77, suppl. 1, p. 351-351, 1994c. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1994, Minneapolis.

_____. Production responses of early lactation cows fed rumen-stable methionine or rumen-stable lisyne plus methionine at two levels of dietary crude protein. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 77, suppl. 1, p. 352-352, 1994d. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1994, Minneapolis.

SOCHA, M.T.; SCHWAB, C.G.; PUTNAM, D.E.; WHITEHOUSE, N.L.; GARTHWAITE, B.D.; DUCHARME, G.A. Extent of methionine limitation in peak-, early-, and mid-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 91, p. 1996-2010, 2008.

SOCHA, M.T.; PUTNAM, D.E.; GARTHWALTE, B.D.; WHITEHOUSE, N.L.; KLERSTEAD, N.A.; SCHWAB, C.G.; DUCHARME, G.A.; ROBERT, J.C. Improving intestinal amino acid supply of pre- and postpartum dairy cows with rumen-protected methionine and lysine. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 88, p. 1113-1126, 2005.

SODER, K.J.; HOLDEN, L.A. Lymphocyte proliferation response of lactationg dairy cows fed varying concentrations of rumen-protected methionine. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 82, p. 1935-1942, 1999.

SOUZA JÚNIOR, S.J. **Estrutura do dossel, interceptação de luz e acúmulo de forragem em pastos de capim-marandu submetidos a estratégias de pastejo rotativo por bovinos de corte**. 2007. 122 p. (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SPIRES, H.R.; CLARK, J.H., DERRIG, R.G.; DAVIS, C.L. Milk production and nitrogen utilization in response to postruminal infusion of sodium caseinate in lactating cows. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 105, p. 1111-1121, 1975.

ST-PIERRE, N.R.; SYLVESTER, J.T. Effects of 2-hydroxi-4-(methylthio) butanoic acid (HMB) and its isopropyl ester on milk production and composition by holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 88, p. 2487-2497, 2005.

STRZETELSKI, J.A.; KOWALCZYK, J.; HEIMBECK, W. The effect of various rumen protected methionine sources on milk yield, milk composition and nitrogen efficiency of cows in midlactation. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 89, suppl. 1, p. 76-76, 2006. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2006, Minneapolis.

SWAN, A.A.; KINGHORN, B.P. Evaluation and exploration of crossbreeding in dairy cattle. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 75, p. 624-639, 1992.

TEIXEIRA, E.I.; MATTOS, W.R.S.; CAMARGO, A.C.; ROSSETO, F.A.A.; TEIXEIRA, C.S.P.Avaliação da produção e utilização de uma pastagem de capim Tobiatã (*Panicum maximum* cv. Tobiatã) sob pastejo rotacionado. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 349-355, 1999.

TOMAS, J.W. Protein requirements of milking cows. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 54, p. 1629-1636, 1971.

TRINDADE, J.K. **Modificações na estrutura do pasto e no comportamento digestivo de bovinos durante o rebaixamento do capim-marandu submetido a estratégias de pastejo rotacionado**. 2007. 162 p. (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

TYRRELL, H.F.; REID, J.T. Prediction of energy value of cow's milk. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 48, p. 1215-1223, 1965.

VAN SOEST, P.J. Integrated feeding systems. In: _____. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. p. 140-155.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A., Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VANHATALO, A.; HUHTANEN, P.; TOIVONEN, F.J.; VARVIKO, T. Responses of dairy cows fed grass silage diets to abomasal infusions of histidina alone or in combination with methionine and lisien. **Journal of Dairy Science,** Albany, v. 82, p. 2674-2685, 1999.

VanRADEN, P.M.; SANDERS, A.H. Economic merit of crossbred and purebred US dairy cattle. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 86, p. 1036-1044, 2003.

VARVIKKO,T.; VANHATALO, T.; JALAVA, T.; HUNTANEN, P. Lactational and metabolic responses to graded abomasal doses of methionine and lysine in cows fed grass silage diets. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 82, p. 2659-2673, 1999.

VAZ, A.K. O que as células somáticas realmente representam? In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. p. 175-180.

VAZQUEZ-ANON, M.; CASSIDY, T.; McCULLOUGH, P.; VARGA, G.A. Effects of Alimet on nutrient digestibility, bacterial protein synthesis, and ruminal disappearance during continuous culture. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 84, p. 159-166, 2001.

VIK-MO, L.; EMERY, R.S.; HUBER, J.T. Milk protein production in cows abomasally infused with casein or glucose. **Journal of Dairy Science.** Albany, v. 57, p. 869-877, 1974.

VILELA, D.; ALVIM, M.J.; CAMPOS, O.F.; RESENDE, J.C. Produção de leite de vacas Holandesas em confinamento ou em pastagem de coast-cross. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 25, p. 1228-1244, 1996.

VOLTOLINI, T.V. **Adequação protéica em rações com pastagens ou com cana-de-açúcar e efeito de diferentes intervalos entre desfolhas da pastagem de Capim Elefante sobre o desempenho lactacional de vacas leiteiras**. 2006. 167 p. (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

VOLTOLINI, T.V.; SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; IMAIZUMI, H.; PENATI, M.A. Teores de proteína bruta para se atingir a adequação em proteína metabolizável na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens de capim Elefante. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD-ROM.

WILDMAN, E.E.; LONES, G.M.; WAGNER, P.P.; BOMAN, R.L.; TROUTT JUNIOR, H.F.; LESCH, T.N. A dairy condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 65, p. 495-501, 1982.