Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Nitrogênio ureico no leite: ferramenta para análise do *status* nutricional de
rebanhos leiteiros

Renata Costa Coutinho

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal
e Pastagens

Piracicaba
2019

Renata Costa Coutinho
Zootecnista

Nitrogênio ureico no leite: ferramenta para análise do *status* nutricional em rebanhos leiteiros
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **PAULO FERNANDO MACHADO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal
e Pastagens

Piracicaba
2019

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Coutinho, Renata Costa

Nitrogênio ureico no leite: ferramenta para análise do status nutricional de rebanhos leiteiros / Renata Costa Coutinho. .- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

93 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Nitrogênio ureico no leite 2. Nutrição 3. Produção de leite
4. Vacas leiteiras I. Título

DEDICATÓRIA

Ao meu avô, Antônio Vieira da Costa

*Que me ensinou o valor da família ...
que me ensinou a amar as coisas da terra e ser honesta.
Por ser meu herói! Saudades eternas ...*

À minha mãe, Sandra Maria da Costa

*Por me ensinar a ser humilde, guerreira e forte.
Obrigada por sempre rezar por mim e apoiar incondicionalmente.*

Ao meu tio, Paulo Roberto Vieira da Costa

*Por ser meu segundo pai ...
pelo carinho e apoio nessa jornada.*

Ao meu esposo, Pablo Hendrigo Alves de Melo

*Meu companheiro de todas as horas ...
Por fazer planos comigo, sempre acreditar e apoiar meus sonhos e nunca duvidar da
minha capacidade.
Te amo!*

Ao meu filho, Antônio Coutinho R. Alves

*Presente de Deus na minha vida!
Tão pequenininho e por tantas vezes meu pilar.
Obrigada pelos abraços, beijos e sorrisos... você é meu universo!*

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente meu esposo e filho, pelo companheirismo, paciência, carinho e apoio em todos os momentos.

Aos meus irmãos pelo apoio e incentivo em todas as escolhas que fiz.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Fernando Machado, pela oportunidade de ser sua orientada, pelos conselhos e ensinamentos transmitidos.

Aos colegas e amigos de laboratório Maximiliano H. de Oliveira Pasetti, Janielen da Silva, Marcos Busannello, Larissa N. de Freitas em especial Helen Krystine da Silva, João Pedro Pereira Winckler pela amizade, companheirismo e auxílio nos trabalhos realizados.

Ao, Dr. Marcelo Corrêa Alves (SIESALQ) pelo grande auxílio que prestou na condução desse trabalho, principalmente nas análises estatísticas.

À “Clínica do Leite” da ESALQ-USP e ao seu time de colaboradores, especialmente ao Augusto Lima, Débora Horn, Cristiano Bueno, Danilo Valente e Thiago Ferraz, pelo suporte, por fornecerem o banco de dados necessário para a realização desse trabalho. Aos grandes amigos Gisela, Eniale, Silvana, Fabiana, Tatiana, Talita, Jatiana, Vanessa e Fábio, pelas risadas e por toda ajuda, carinho e companheirismo durante esses anos. Muito bom estar junto de quem quer melhorar a qualidade do leite.

Ao programa de pós-graduação “Ciência Animal e Pastagens” da ESALQ-USP e aos professores do Departamento de Zootecnia, principalmente ao Prof. Dr. Gabriel Adrián Sarriés e à Prof.^a Dr. Carla Maris Machado Bittar, pelos ensinamentos, pela participação no meu comitê de orientação, bem como pelas sugestões para aprimorar esse trabalho.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) pela infraestrutura necessária para a condução desse trabalho e os profissionais que auxiliaram para o conhecimento obtido.

À Capes pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS.....	11
CAPÍTULO 3.....	11
CAPÍTULO 4.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	12
1. INTRODUÇÃO	13
1.1. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO.....	14
1.2. OBJETIVOS	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. COMPOSIÇÃO DO LEITE	17
2.2. NITROGÊNIO UREICO DO PLASMA (NUP) E DO LEITE (NUL)	17
2.3. METABOLISMO DE PROTEÍNA	18
2.4. UREIA COMO INDICADOR DE CONSUMO DE PROTEÍNA.....	19
2.5. FATORES QUE AFETAM O TEOR DE NITROGÊNIO UREICO NO LEITE (NUL)	20
2.6. NÍVEL DE UREIA E SUA INFLUÊNCIA SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DOS ANIMAIS	28
2.7. UREIA E POLUIÇÃO AMBIENTAL	29
2.8. UREIA E CUSTO	30
2.9. AMOSTRA DE TANQUE OU INDIVIDUAL	31
2.10. TAMANHO DA AMOSTRA	31
2.11. PADRÃO DE REFERÊNCIA	32
3. PERCEPÇÃO DOS PRODUTORES A RESPEITO DA ANÁLISE DE NITROGÊNIO UREICO NO LEITE	41
RESUMO.....	41
3.1. INTRODUÇÃO	42
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	43
3.3. RESULTADOS	46
3.4. DISCUSSÃO.....	57
3.5. CONCLUSÃO	61
4. VARIAÇÃO DO NITROGÊNIO UREICO NO LEITE (NUL) ATRAVÉS DE FATORES NÃO NUTRICIONAIS.....	67
RESUMO.....	67
ABSTRACT	67
4.1. INTRODUÇÃO	68
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	68
4.3. RESULTADOS	70
4.4. DISCUSSÃO.....	74
4.5. CONCLUSÃO	77
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
APÊNDICES	83

RESUMO

Nitrogênio ureico no leite: ferramenta para análise do status nutricional de rebanhos leiteiros

A análise de nitrogênio ureico no leite (NUL) vem sendo proposta para o monitoramento da nutrição proteica de vacas em lactação. Alguns estudos demonstram que alterações no NUL podem resultar de diversos fatores nutricionais. Contudo, para correta interpretação dos resultados da análise, é importante considerar, além dos fatores da dieta, fatores não nutricionais, como por exemplo a produção de leite, número de lactações, estágio da lactação, raça, peso vivo do animal, contagem de células somáticas (CCS), concentração de gordura e proteína no leite. Também é importante considerar o sistema de produção utilizado nas propriedades, a estação do ano e o momento da amostragem. Dessa forma, os objetivos deste estudo foram analisar a percepção dos produtores sobre pontos importantes da utilização da análise de NUL, analisar os fatores que podem afetar a tomada de decisão para utilização ou não da análise NUL, apresentar quais fatores e percepções dos produtores mais explicam a variação dos valores de NUL e avaliar o efeito de fatores não nutricionais sobre a variação do NUL. Para isso, no primeiro estudo, foi aplicado um questionário, composto por 65 perguntas, disponibilizado entre 27 de agosto e 25 de setembro de 2018, totalizando 63 respondentes. Para verificar a existência de associação entre as variáveis categóricas, os dados foram submetidos ao teste de qui-quadrado. Para as variáveis relativas às questões mensuradas em escala de Likert e as quantitativas, utilizou-se o teste não paramétrico de soma de postos de Wilcoxon. Um modelo linear geral foi conduzido para entender quais fatores e percepções explicam melhor a variação dos valores de NUL. Os fatores associados entre a utilização ou não da análise de NUL foram o nível de escolaridade dos produtores e o sistema de produção adotado nas fazendas. No modelo linear geral, os fatores que resultaram em melhor ajuste foram o sistema de produção adotado, o recebimento ou não de pagamento por qualidade do leite, a utilização ou não de ureia na dieta e o horário de coleta da amostra para a análise. Além disso, foi observada redução no valor de NUL em 0,79 mg/dL para cada aumento de 1 no escore da percepção de importância da análise conjunta entre o teor de proteína do leite e o teor de NUL, e o aumento de 0,63 para cada aumento de 1 no escore da percepção de importância para aqueles que consideraram importante analisar o teor de NUL em conjunto com status reprodutivo do animal. O objetivo do segundo estudo foi desenvolver modelos que expliquem a variação do NUL, utilizando fatores não nutricionais: gordura (GORD)(%), proteína (PROT)(%), lactose (LACT)(%), sólidos totais (ST)(%), extrato seco desengordurado (ESD)(%), contagem de células somáticas (CCS)(células/mL), relação gordura/proteína (RELGP), número de dias em lactação (DEL), número de lactações (NL) e média de produção de leite (kg/dia). Foram utilizados dados de 117.443 testes diários de 53 rebanhos que enviaram amostras de leite para a Clínica do Leite (ESALQ/USP) entre janeiro de 2016 e dezembro 2018. Uma análise de agrupamento foi conduzida para formação de grupos homogêneos de fazenda, resultando em sete *clusters*. Para cada *cluster*, um modelo linear generalizado misto foi aplicado. Nesse modelo, os fatores mês e ano foram tratados como aleatórios, além de as medidas repetidas serem consideradas dentro de uma mesma fazenda. O modelo gerado para cada *cluster* foi influenciado por diferentes variáveis estudadas; somente ESD não apresentou ajuste a modelo proposto. As fazendas tiveram a variação do NUL explicada pelas variáveis *cluster* 1: PROT, LACT, logaritmo natural de contagem de

células somáticas (LCCS), RELGP, DEL e produção de leite; *cluster* 2: PROT, LACT, ST, LCCS, DEL e produção de leite; *cluster* 3: PROT, LACT, LCCS, RELGP, DEL, NL e produção de leite; *cluster* 4: GORD; *cluster* 6: PROT, RELGP e DEL. Os *clusters* 5 e 7 não apresentaram variáveis significativas. Os resultados destes estudos apontam que fatores além dos nutricionais devem ser avaliados e comparados entre si para correta interpretação dos resultados da análise de NUL. Além disso, mais estudos devem ser realizados para determinar valores de referência para análise no Brasil, a fim de desenvolver recomendações mais específicas aos produtores.

Palavras-chave: Nitrogênio ureico no leite, Nutrição, Produção de leite, Vacas leiteiras

ABSTRACT

Milk urea nitrogen (MUN): tool for dairy cattle nutritional status analysis

The analysis of milk urea nitrogen (MUN) has been proposed for monitoring the protein nutrition of lactating cows. Some studies show that changes in MUN may result from several nutritional factors. However, for a correct interpretation of the analysis results, it is important to consider, in addition to dietary factors, non-nutritional factors, such as milk production, number of lactations, stage of lactation, breed, animal live weight, somatic cell count (SCC), milk fat and protein concentration. The production system used in the properties, season and sampling time are also taken into account. Thus, the purposes of this study were to analyze producers' perceptions about important points in the use of MUN analysis, to analyze the factors that may affect decision-making to use or not MUN analysis, to present which factors and producers' perceptions explain the variation of MUN values and to evaluate the effect of non-nutritional factors of MUN variation. For this purpose, in the first study, a questionnaire consisting of 65 questions was applied and made available from August 27th to September 25th 2018, totalizing 63 respondents. To verify the existence of an association between the categorical variables, the data was submitted to the chi-squared test. For the variables related to the questions measured on the Likert scale and the quantitative ones, the nonparametric Wilcoxon rank sum test was used. A general linear model was conducted to understand which factors and perceptions better explain the variation in MUN values. The factors associated between the use or not of MUN analysis were the educational level of the producers and the production system adopted in the farms. In the general linear model, the factors that resulted in better adjustment were the production system adopted, whether a payment by milk quality was received or not, whether urea was used in the diet or not, and the time of sample collection for analysis. Besides that, there was a reduction in the MUN value by 0.79 mg/dL for each increase of 1 in the score of importance perception from the joint analysis between milk protein content and MUN, and an increase of 0.63 for each increase of 1 in the score of importance perceptions for those who considered important analyzing the MUN content with the reproductive status of the animal. The purpose of the second study was to develop models that explain NUL variation using non-nutritional factors: fat (FAT)(%), protein (PROT)(%), lactose (LACT)(%), total solids (TS)(%), defatted dry extract (DDE)(%), somatic cell count (SCC) (cells/mL), fat/protein ratio (FPRatio), number of lactation days (LD), number of lactations (NL) and average milk yield (kg/day). Data from 117.443 daily tests from 53 herds that sent milk samples to *Clínica do Leite* (Milk Clinic) (ESALQ/USP), between January 2016 and December 2018, were used. A cluster analysis was conducted to create homogeneous farm groups, and resulting in seven clusters. For each cluster, a mixed generalized linear model was applied. In this model, the month and year factors were considered random, and the repeated measures were considered within the same farm. The model generated for each cluster was influenced by different variables studied; only DDE did not fit any proposed model. The farms had the MUN variation explained by the variables cluster 1: PROT, LACT, SCCL (somatic cell count logarithm), FPRatio, LD and milk production; cluster 2 PROT, LACT, TS, SCCL, LD and milk production; cluster 3: PROT, LACT, SCCL, FPRatio, LD, NL and milk production; cluster 4: FAT; cluster 6: PROT, FPRatio and LD. Clusters 5 and 7 did not present significant variables. The results of these studies indicate that factors other than nutritional ones should be evaluated and compared to each other for correct interpretation of the results of the MUN analysis. In addition,

further studies should be conducted to determine benchmarks for analysis in Brazil, in order to develop more specific recommendations to producers.

Keywords: Urea nitrogen in milk, Nutrition, Milk production, Dairy cows

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 3

Figura 1- Cargo e escolaridade dos respondentes.....	46
Figura 2 - Localização das propriedades	47
Figura 3 - Sistema de produção.....	48
Figura 4 - Divisão em lotes e fatores que determinam a divisão dos lotes	49
Figura 5 - Forma e momento de oferta do alimento concentrado.....	50
Figura 6 -Porcentagem de respondentes que declararam utilizar ou não a análise de NUL.....	52
Figura 7 Frequência de realização do NUL, tipo e horário de coleta da amostra.....	52
Figura 8- Gráficos: Diagnóstico nutricional e relação proteína x nitrogênio ureico no leite (NUL).....	54

Capítulo 4

Figura 1 – Descrição da triagem dos dados.....	69
Figura 2 – Análise de agrupamento.....	71
Figura 3 – Distribuição das fazendas.....	71
Figura 4 – Médias por <i>cluster</i> – Gráfico star.....	73

LISTA DE TABELAS

Capítulo 3

Tabela 1 – Associação entre uso da análise de NUL e escolaridade	47
Tabela 2 – Associação entre uso da análise de NUL em sistema de produção e tipo de confinamento...	48
Tabela 3 – Porcentagem de respondentes que avaliaram a importância dos fatores abaixo na identificação de um possível desbalanceamento na dieta do rebanho.....	50
Tabela 4 – Comparações (mediana e intervalo interquartis), pelo método de soma de postos de Wilcoxon, entre as respostas dos respondentes que utilizavam ou não a análise de NUL.....	51
Tabela 5 — Porcentagem de respondentes que avaliaram a importância dos fatores abaixo junto à análise de NUL para interpretação de seus resultados	55
Tabela 6 – Coeficientes e médias ajustadas de valores de NUL e fatores que afetam sua variação para respondentes que utilizavam a análise de NUL.....	56

Capítulo 4

Tabela 1 — Descrição da distribuição dos dados	72
Tabela 2 – Variáveis do modelo final	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIC	Critério de informação de Akaike
ATP	Adenosina trifosfato
BIC	Critério de informação de Bayesiano
CCS	Contagem de Células Somáticas
CEPSH	Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
CMT	Califórnia Mastitis Test
Ccél	Células
DEL	Dias em lactação
ECC	Escore de condição corporal
ESD	Extrato Seco Desengordurado
FDN	Fibra em detergente neutro
GORD	Gordura
IA	Inseminação artificial
kg	Quilograma
LACT	Lactose
LCCS	logaritmo natural de contagem de células somáticas
mg/dL	Miligramas por decilitro
mmol/L	Milimols por litro
MS	Matéria seca
n	n-amstral
N	Nitrogênio
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NL	Número de lactações
NUL	Nitrogênio Ureico no Leite
NNP	Nitrogênio não protéico
NUP	Nitrogênio Ureico no Plasma
NUS	Nitrogênio Ureico no Sangue
PB	Proteína bruta
PDR	Proteína degradável no rúmen
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
PROT	Proteína
Q	Questão
RELGP	Relação gordura/proteína
ST	Sólidos Totais
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TD	Testes Diários
Valor-P	Probabilidade de Significância

1. INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os maiores produtores mundiais de leite, sendo a região Sudeste a maior produtora nacional. De 1974 a 2014 a produção brasileira passou de 7,1 bilhões para mais de 35 bilhões de litros de leite por ano. Entretanto, nos anos de 2015 e 2016, devido à crise econômica enfrentada pelo país, houve redução de 2,8 e 3,7%, respectivamente, na produção. A partir do segundo semestre de 2016, a produção de leite voltou a subir, obtendo, em 2017, aumento de 4%, totalizando 33 bilhões de litros (IBGE, 2018).

As características do leite têm influência significativa no rendimento dos produtos lácteos, de modo que a composição dele é de grande importância para a indústria de laticínios. A prática crescente do pagamento por qualidade do leite pelas indústrias faz com que os produtores busquem explorar, cada vez mais, a nutrição como meio de modificar a composição do leite para máximo retorno econômico (VIOTTO; CUNHA, 2006; MÜHLBACH, 2011).

Analisar a qualidade do leite é prática corriqueira em muitas propriedades brasileiras (MACHADO; CASSOLI, 2006). Entretanto, os resultados das análises de composição são pouco aproveitados para avaliação do status nutricional dos animais. A composição do leite pode ser uma ferramenta importante no monitoramento nutricional dos animais, permitindo ao produtor identificar os pontos limitantes e verificar os resultados de eventuais correções (PEREIRA et al., 2001).

Existe grande interesse no uso do nitrogênio ureico no leite (NUL) para determinar o que realmente foi consumido e metabolizado pelo animal (CORASSIN et al., 2004; ROY et al. 2011). A análise de NUL permite verificar eventuais disfunções digestivas e/ou metabólicas, bem como determinar a eficiência nutricional do rebanho leiteiro, especialmente quanto ao balanço de proteína/energia da dieta.

No rúmen, a proteína advinda da alimentação é digerida pela microbiota ruminal à amônia que, por sua vez, é utilizada pelas bactérias na síntese de proteína microbiana. Quando a concentração de amônia no rúmen excede a capacidade de utilização dos microorganismos ruminais, a amônia é absorvida, chegando ao fígado através do sistema porta, onde, por ser tóxica ao animal, é rapidamente convertida em ureia (SWENSON; REECE, 1993). Por se tratar de uma molécula neutra e de baixo peso, a ureia se difunde facilmente pelas membranas, podendo ser encontrada no sangue e em outros fluidos corporais, como leite, saliva, urina, além de suco gástrico e intestinal. A ureia excretada na urina de uma vaca é diretamente proporcional à concentração de ureia encontrada em seu sangue/plasma (CISZUK; GEBREGZIABHER, 1994; BRODERICK; CLAYTON, 1997), que, por sua vez, é proporcional à concentração de ureia presente no leite (ROSELER et al., 1993; BRODERICK; CLAYTON, 1997).

Lucci et al. (2006) e Huhtanen et al. (2015), em consideração à alta correlação entre as concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) e NUL, sugerem o emprego de qualquer uma dessas duas variáveis como parâmetro de avaliação do teor proteico em dietas de vacas lactantes. Porém, no Brasil o emprego da análise de NUL como ferramenta para avaliação do *status* nutricional do rebanho ainda é baixo, o que pode acarretar em um maior custo de produção devido a falta de refinamento no manejo alimentar.

1.1. Justificativa do trabalho

Apesar dos avanços tecnológicos nos equipamentos de análise de leite, que tornaram as análises rápidas (aproximadamente 3 dias para disponibilização do resultado), precisas e com baixo custo (aproximadamente R\$2,52/amostra), a análise de NUL não é aproveitada, pelas fazendas brasileiras, em seu amplo potencial como ferramenta para avaliação do status nutricional do rebanho.

Uma vez que grande parte da receita de uma fazenda é gasta na alimentação dos animais (PERES, 2001), o uso correto dessa ferramenta permitiria, ao produtor, reduzir gastos em sua propriedade de forma eficiente, sem perda na produção, através do refinamento no manejo alimentar.

Diversos trabalhos publicados descrevem diferentes padrões de referência para o teor de NUL nos rebanhos. O padrão de referência, 10 a 14 mg/dL (miligramas por decilitro), é proposto por Jonker e Kohn (1998); Jonker et al. (1998); Rajala-Schultz e Saville (2003); Johnson e Young (2003); Cordeiro et al. (2007) e Roy et al. (2011). Porém, esses parâmetros são baseados em estudos realizados em outros países, em condições de rebanho, clima, dieta e manejo diferentes do Brasil, visando a necessidade de futuros estudos em ambiente nacional.

Ao avaliar teores de PROT (proteína) e NUL, de aproximadamente 30 mil amostras de tanques, no período de julho de 2005 a agosto de 2006 na região Sudeste do Brasil, Machado e Cassoli (2006) demonstraram que mais de 70% das amostras analisadas apresentaram um teor de NUL abaixo de 10 mg/dL. Apenas 15% apresentaram valores considerados pelos autores como normais, entre 10 a 14 mg/dL. Porém, ao analisar dados dos anos de 2016 à 2018 para elaboração deste estudo foi possível observar que 44,7 % das amostras analisadas contém entre 10 e 14 mg/dL de NUL, o que indica uma melhora nesses índices.

Alterações no NUL podem resultar de diversos fatores nutricionais. Contudo, para correta interpretação dos dados de NUL, é importante considerar, além dos fatores da dieta, fatores não nutricionais.

Dessa forma, estudar os fatores não nutricionais que afetam a concentração do NUL no Brasil, entender a percepção dos produtores sobre pontos importantes da utilização da análise, além dos fatores que possam afetar a tomada de decisão para utilização ou não da análise, juntamente com melhorias na apresentação dos resultados que facilitem a compreensão e incentivem a utilização da análise como ferramenta para formulação da dieta, poderá levar a melhoria da composição do leite, reduzir custos do produtor e aumentar a competitividade da pecuária leiteira.

1.2. Objetivos

- I) Analisar a percepção dos produtores sobre pontos importantes da utilização da análise de NUL;
- II) Analisar os fatores que possam afetar a tomada de decisão para utilização ou não da análise NUL;
- III) Apresentar quais fatores e percepções dos produtores mais explica a variação dos valores de NUL;
- IV) Avaliar o efeito de fatores não nutricionais sobre a variação do NUL.

REFERÊNCIAS

- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A Statistical Evaluation of Animal and Nutritional Factors Influencing Concentrations of Milk Urea Nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2964–2971, 12 abr. 1997.
- CISZUK, P.; GEBREGZIABHER, T. Milk urea as an estimate of urine nitrogen of dairy cows and goats. **Acta Agriculturae Scandinavica A: Animal Sciences**, v. 44, n. 2, p. 87–95, 1994.
- CORASSIN, C. H. et al. Avaliação de ferramentas utilizadas no balanceamento de dietas completas para vacas em lactação. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 2, 2 jul. 2004.
- CORDEIRO, C. F. de A. et al. Consumo e digestibilidade total dos nutrientes e produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta na dieta contendo cana-de-açúcar e concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2118–2126, 2007.
- HUHTANEN, P. et al. Evaluation of between-cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n.5, p. 3182–3196, Maio, 2015.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Trimestral do Leite (2018)**. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/leite/tabelas>>. Acesso em: 14, maio de 2019.
- JOHNSON, R. G.; YOUNG, A. J. The Association Between Milk Urea Nitrogen and DHI Production Variables in Western Commercial Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 9, p. 3008–3015, 30 mar. 2003.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A. MUN testing: useful but ambiguous. **Hoard's Dairyman**, v. 143, n. 6, p. 252, 1998.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using Milk Urea Nitrogen to Predict Nitrogen Excretion and Utilization Efficiency in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 10, p. 2681–2692, 5
- LUCCI, C. S. et al. Concentrações de nitrogênio na dieta, no sangue e no leite de vacas lactantes no período pós-parto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 258–263, 2006.
- MACHADO, P.F., CASSOLI, L.D. Diagnóstico da qualidade do leite na Região Sudeste. In: MESQUITA, A.J., DURR, J.W., COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, v.1, p. 55-72. 2006.
- MÜHLBACH, P.R.F. Nutrição da vaca em lactação e a qualidade do leite. **Artigos técnicos Engormix**. 2011. Disponível em:<<https://pt.engormix.com/pecuaria-leite/artigos/vaca-lactacao-qualidade-leite-t36999.htm>>. Acesso em : 13 jun. 2018.
- PEREIRA, D. B. C. et al. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. rev. ampl. ed. Juiz de Fora: Epamig, 2001.
- PERES, J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DURR, J. W.; FONTANELI, R. S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 30 – 45, 2001.
- RAJALA-SCHULTZ, P. J.; SAVILLE, W. J. A. Sources of Variation in Milk Urea Nitrogen in Ohio Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 5, p. 1653–1661, 26 mar. 2003.

- ROSELER, D. K. et al. Dietary Protein Degradability Effects on Plasma and Milk Urea Nitrogen and Milk Nonprotein Nitrogen In Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 525–534, 12 abr. 1993.
- ROY, B. et al. Evaluation of milk urea concentration as useful indicator for dairy herd management: A review. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, n 1, p. 1-19, 2011.
- SWENSON, M.; REECE, W. **Dukes' physiology of domestic animals**. 11. ed. [s.l.] Ithaca: Cornell University Press, 1993.
- VIOTTO, W.H; CUNHA, C.R. Teor de sólidos do leite e rendimento industrial. In. MESQUITA, A.J.; DURR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, v.1, p. 241-258. 2006.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Composição do leite

Quando falamos da composição do leite, pensamos, principalmente, nas porcentagens de água, proteína, gordura, lactose e cinzas. Esses componentes são importantes para o processamento e rendimento dos produtos lácteos, sendo, portanto, interesse da indústria. Porém, a composição do leite também pode ser interessante para o produtor como uma ferramenta para monitoramento da atividade leiteira, permitindo a identificação de pontos limitantes e verificação dos resultados de eventuais correções em busca de uma atividade mais rentável. Para tal, é necessário compreender o efeito da alimentação, do ambiente, do manejo reprodutivo, da genética, entre outros fatores que possam influenciar a lactação e composição do leite (PEREIRA et al., 2001).

Os elementos sólidos no leite representam, aproximadamente, 12 a 13%; destes os teores de proteína representam aproximadamente 3%, sendo compostos por 5% de nitrogênio não proteico e 95% de nitrogênio proteico. O nitrogênio não proteico é formado por 30-50% de nitrogênio ureico; o restante é formado principalmente por creatinina, ácido úrico, aminoácidos e amônia. Por sua vez, o nitrogênio proteico é formado por 80% de caseína e 20% de proteínas do soro (ROSELER et al., 1993).

2.2. Nitrogênio ureico doplasma (NUP) e do leite (NUL)

A ureia é uma molécula neutra que, devido ao seu baixo peso, se difunde facilmente pelas membranas, podendo ser encontrada no sangue ou plasma e em outros fluidos corporais, como leite, saliva, urina, além de suco gástrico e intestinal. A ureia excretada na urina de uma vaca é diretamente proporcional à concentração de ureia encontrada em seu sangue/plasma (CISZUK; GEBREGZIABHER, 1994; BRODERICK; CLAYTON, 1997) que, por sua vez, é proporcional à concentração de ureia presente no leite (ROSELER et al., 1993; BRODERICK; CLAYTON, 1997). Jonker et al. (1998) apontam que a correlação entre o nitrogênio ureico no plasma (NUP) e o nitrogênio ureico no leite (NUL) é elevada (coeficiente de correlação igual a 0,88). Segundo os autores, a ureia se difunde para dentro e para fora das células alveolares secretoras de leite, entrando em equilíbrio com a ureia presente no plasma.

O nitrogênio ureico reflete a concentração de amônia no ambiente ruminal (resultado do catabolismo da proteína), podendo ser proveniente também da deaminação dos aminoácidos, sejam eles oriundos da absorção pelo trato digestivo ou da mobilização de tecidos corporais e que não foram utilizados pelo animal (DIJKSTRA et al., 1998; SOARES et al., 2006). Roseler et al. (1993) apontam que o nitrogênio oriundo da degradação proteica no rúmen é o principal colaborador para concentração de ureia plasmática. Porém, observa-se também uma elevação do nitrogênio em situações de intenso catabolismo proteico, como no início da lactação, em que o animal se encontra em balanço energético negativo por deficiência proteica ou subnutrição.

2.3. Metabolismo de proteína

As proteínas fornecem aos ruminantes os aminoácidos necessários à manutenção das funções vitais, do crescimento, da reprodução e da lactação. Os ruminantes, por meio de microrganismos ruminais, possuem capacidade de sintetizar aminoácidos e proteínas através de fontes de nitrogênio não proteico.

A proteína bruta, proveniente da dieta que pode ser degradada pelos microrganismos do rúmen, constitui a PDR (proteína degradável no rúmen). Já a proteína que resiste às condições ruminais e é digerida no intestino delgado é denominada como PNDR (proteína não degradável no rúmen) ou *bypass*.

No rúmen, a proteína é digerida pela microbiota ruminal e se transforma em amônia que, por sua vez, é utilizada pelas bactérias na síntese de proteína microbiana. Santos e Huber (1996) atribuíram a degradação da proteína microbiana no intestino delgado como a principal fonte de aminoácidos para a síntese do leite e crescimento; a síntese de proteína microbiana é maximizada quando a relação entre a energia disponível e a proteína solúvel é otimizada.

Em média, a partir de 100 g de matéria orgânica fermentada no rúmen são sintetizadas 20 g de proteína bacteriana. Esta síntese pode variar de 400 g/dia a 1.500 g/dia, dependendo da digestibilidade e da energia da dieta (GULINSKI et al., 2016). Aproximadamente 60% dos aminoácidos absorvidos no intestino delgado têm origem bacteriana e os 40% restantes vêm das proteínas não degradadas no rúmen (WOLTER, 1997).

Segundo Amaral-Philips (2017) e Lopez e Ordóñez (2019), a quantidade e disponibilidade de carboidratos no rúmen são reguladores primários da síntese de proteínas microbianas, pois, para capturar a amônia, as bactérias precisam de uma fonte de energia. Portanto, quantidades suficientes de carboidratos fermentáveis devem ser fornecidas ao animal para otimizar a função ruminal e produção de proteína microbiana. Hogan (1974) e Godden et al. (2001b) citam diversos fatores que influenciam a utilização da amônia pelos microrganismos ruminais: os teores em PB (proteína bruta), PDR, PNDR, energia na dieta e proporção proteína/energia.

Quando a concentração de amônia no rúmen excede a capacidade de utilização dos microrganismos ruminais, a mesma é absorvida chegando ao fígado através do sistema porta, onde, por ser tóxica ao animal, é rapidamente convertida em ureia. O excesso de aminoácidos e peptídeos também são deaminados no fígado e o nitrogênio é convertido em ureia (SWENSON; REECE, 1993). Essa ureia pode retornar ao rúmen via saliva ou mesmo pela parede ruminal ou ser excretada nas fezes, na urina ou no leite. Schepers e Meijer (1998) apontam que a ureia formada no fígado resulta principalmente do excedente de PDR e PNDR na dieta de ruminantes. Relatam existir também uma alta associação (coeficiente de correlação igual a 0,80) entre a concentração de PDR da dieta e a concentração de NUL. Herrera-Saldana et al. (1990) também relataram que dietas com excesso de PNDR tinham menores concentrações ruminais de amônia, porém tinham maiores concentrações de NUP. Isso se dá ao fato de haver uma maior deaminação dos aminoácidos absorvidos pelo trato digestivo, mas não aproveitados pelo organismo.

2.4. Ureia como indicador de consumo de proteína

A ingestão de proteínas na dieta é o fator mais importante na determinação da produção, composição do leite, perdas urinárias de nitrogênio, teor de uréia no leite e, conseqüentemente, emissões de amônia no estrume de vacas leiteiras (GULINSKI et al. 2016). O potencial da utilização dos teores de ureia como um indicador da ingestão de proteína dietética de vacas leiteiras já é reconhecido há pelo menos seis décadas, quando Lewis (1957) estudou a “Concentração de ureia no sangue em relação à utilização de proteína no ruminante”. Existe grande interesse no uso do NUL para determinar o que realmente foi consumido e metabolizado pelo animal (CORASSIN et al., 2004). Dessa forma, o monitoramento do NUL permite verificar eventuais disfunções digestivas e/ou metabólicas, bem como determinar a eficiência nutricional do rebanho leiteiro, especialmente quanto ao balanço de proteína/energia da dieta.

Nousiainen et al., (2004) ressaltam que o teor de PB na dieta é o fator nutricional mais importante que influencia o NUL, e que as medidas do NUL podem ser utilizadas como diagnóstico de alimentação protéica na vaca leiteira e usadas para prever a excreção urinária de nitrogênio (N).

Apesar dos avanços tecnológicos nos equipamentos de análise de leite, que a tornou rápida, precisa e de baixo custo (ROY et al., 2011), a análise de NUL não é aproveitada, pelas fazendas brasileiras, em seu amplo potencial como ferramenta para avaliação do status nutricional do rebanho. Essa ferramenta permitiria, ao produtor, reduzir a proteína bruta da dieta de forma eficiente, sem perda na produção, através do refinamento no manejo alimentar da propriedade.

Moore e Varga (1996) concluem que o NUP pode ser um bom indicador da proteína não utilizada pelo animal. Outros autores, como Frank e Swensson (2002), Roseler et al. (1993), Hinders (1996) e Huhtanen et al. (2015), têm demonstrado a relação entre proteína da dieta e nível de NUL. Jonker et al. (1998) e Lucci et al. (2006), considerando a alta correlação entre as concentrações de NUP e NUL, sugerem o emprego de qualquer uma dessas duas variáveis como parâmetro de avaliação do teor protéico em dietas de vacas lactantes.

Godden et al. (2001b) apontam que a deficiência de energia na dieta e/ou excesso de PB (PDR e PNDR) podem elevar o valor do NUL e indicar um suprimento excessivo de nitrogênio para os microrganismos ruminais. Broderick e Clayton (1997) constataam uma relação positiva entre o NUL e a PB da dieta (coeficiente de variação igual a 0,84). Já Ferguson e Chalupa (1989) afirmam que a porcentagem de PB presente na dieta é um pobre indicador da adequação da nutrição protéica, salientando que outros fatores, como energia da dieta e produção, seriam determinantes nos níveis de NUP. Mutsvangwa et al. (2016) relatam que nas dietas com alto teor de PB, a concentração de NUL foi maior em vacas alimentadas com a dieta com alta PDR comparada com aqueles que receberam dieta com baixo PDR.

Colmenero e Broderick (2006) relatam que as concentrações de nitrogênio uréico no sangue (NUS) e NUL aumentaram significativamente em resposta ao conteúdo de PB na dieta. Segundo os autores, a ureia no sangue aumentou de 10,7 para 24,0 mg/dL (miligramas por decilitro) e o NUL aumentou de 7,7 para 15,6 mg/dL, quando o teor de PB da dieta aumentou de 13,5 para 19,4%.

Caldeira (2005) aponta a determinação do NUL como uma análise extremamente simples. Segundo Hinders (1996), o uso do NUL tornou-se um importante recurso para os nutricionistas, com a finalidade de avaliar a eficiência da utilização de proteína em várias dietas.

2.5. Fatores que afetam o teor de nitrogênio ureico no leite (NUL)

2.5.1. Alimentação

Para obter um melhor desempenho produtivo, com raças cada vez mais especializadas, o produtor vem aumentando a concentração de proteína na dieta, com o objetivo de obter ganhos na produção de leite e no peso dos animais (HAMED et al., 2001). Além disso, para sustentar a produção de leite durante o início da lactação, os produtores frequentemente aumentam a densidade de nutrientes das dietas para compensar as ingestões sub-ótimas. Essas situações podem levar à ingestão de proteína em excesso (ROY et al., 2011).

Huber e Kung (1981), Chalupa (1984) e Roy et al. (2011), demonstram que aumentos crescentes na concentração dietética de proteína produzem incrementos decrescentes na produção de leite, ou seja, as respostas em produção de leite se tornam menores a quantidades progressivamente mais altas de proteína. É condizente aos resultados de Hogan (1974), Colmenero e Broderick (2006) e Edwards et al. (1980), que observam que a adição de uma unidade de proteína na dieta, contendo 16% de PB, resulta em aumentos de produção de leite cada vez menores. O NRC (2001), prevê respostas na produção de leite: 0,75 kg/dia quando a PB na dieta aumentou de 15 para 16% e 0,35 kg/dia quando a PB passou de 19 para 20%, sendo a máxima produção de leite alcançada, com 23% PB na dieta.

As altas concentrações de NUL podem ser resultado de vários fatores nutricionais, como excesso de PB (PDR e PNDR) na dieta, quantidade inadequada de energia ou PNDR com perfil de aminoácidos inadequados, que diminuem a eficiência de utilização do nitrogênio pelo animal (Jonker et al., 1998).

Carlsson e Perhson (1994) observam que quando as vacas foram alimentadas com quantidade constante de energia, porém com níveis crescentes de PDR, a cada aumento de 60 g adicionais de PDR a concentração de ureia aumentou em 0,2 a 0,3 mmol/L (milimols por litro). Esse aumento foi atribuído à degradação ruminal da proteína excedente à amônia não utilizada na síntese de proteína microbiana.

Claypool et al. (1980) concluem que o NUP está diretamente associado à ingestão de PB da dieta. Mutsvangwa et al. (2016) apontam que nas dietas com alto teor de PB com elevado nível de PDR, a concentração de nitrogênio ureico no leite foi maior, quando comparadas com aquelas alimentadas com a dieta pobre em PDR. Staples et al. (1990), ao correlacionar o consumo de PB com o NUS, relatam um aumento de 2,50 mg/dL de NUS para cada quilo adicional de PB ingerido pelo animal. Porém, devido à baixa correlação (0,31), chegou à conclusão que o NUS não era um bom indicador do consumo de proteína, e sim do aproveitamento da PB pelo animal. Portanto, as vacas poderiam estar recebendo altos níveis de PB na dieta (19 a 21%) e ter valores aceitáveis de NUS ou NUL devido ao uso eficiente do nitrogênio, por intermédio de um bom balanço de aminoácidos ou uma boa disponibilidade de energia ruminal. Rajala-Schulz et al. (2001) sugerem que altos níveis de produção e valores relativamente baixos de NUL (entre 10 e 11 mg/dL) são possíveis. Atribui-se esse fato à monitoria do NUL, que proporciona

a realização de mudanças apropriadas nas composições das rações, sendo uma oportunidade para as propriedades melhorarem a eficiência na alimentação e os ganhos econômicos.

Assim, a suplementação das vacas com proteína deve ser criteriosa, uma vez que esse é o nutriente mais caro da dieta, sendo considerada não só a quantidade, como também sua degradabilidade no rúmen.

2.5.2. Degradabilidade da proteína

Dietas com a mesma porcentagem de proteína bruta podem apresentar diferentes degradabilidades ruminais e afetar as concentrações de NUL. Roseler et al., (1993) ao testarem os efeitos da concentração e degradabilidade da proteína na dieta sobre a produção de leite e o NUL/NUS, observaram que menores níveis de proteína na dieta (12,2%), bem como excessos de PDR e PNDR, afetaram os níveis de NUL/NUS. Foi possível observar que dietas com o mesmo teor de proteína (15,5%), mas com degradabilidades diferentes dão resultados diferentes, em que a dieta com maior degradabilidade possui menor teor de NUL.

Resultado semelhante ao encontrado por Shah et al. (2019), mantendo o teor de proteína em 16% porém com degradabilidades distintas, observaram uma maior produção de leite e melhores níveis de NUL em dietas com maior degradabilidade do alimento. Howard et al. (1987), no entanto, observaram maiores valores de NUP com o fornecimento de proteínas de elevada degradabilidade.

2.5.3. Energia da dieta

A ingestão de energia na dieta é um fator importante para determinar o nitrogênio ureico no sangue ou leite. Os microrganismos ruminais requerem energia, tanto para degradarem os alimentos como para sintetizarem a proteína microbiana (VAZ PORTUGAL, 1972; PAYNE; PAYNE, 1987). Assim, uma ingestão insuficiente de energia em relação à de proteína ou uma ingestão equilibrada, mas com taxas de degradabilidade muito diferentes, podem causar aumento do NUS (HAMMOND, 1983). Autores como Payne e Payne (1987), Staples et al. (1990) e Jonker et al. (1998) demonstram a importância do balanço proteína/energia para evitar altas excreções de nitrogênio pelo organismo.

Lindberg e Jacobsson (1990) relatam que, na utilização de dietas isoproteicas, o nível crescente de energia provocou concentrações decrescentes de NUP. Oltner e Wiktorsson (1983) e Roseler et al. (1993) mostram que variações na quantidade total de proteína ingerida não afetaram NUL, enquanto a relação proteína/energia foi mantida. Porém, quando essa relação aumentava, havia maiores concentrações de NUL.

2.5.4. Uso de ureia na dieta

Fontes de proteína convencionais são, normalmente, os componentes mais caros da ração para vacas leiteiras. O uso de ureia e outros compostos de nitrogênio não protéico (NNP) podem representar uma alternativa para atender às exigências de vacas leiteiras em proteína, além de proporcionar redução no custo da dieta (LÓPEZ, 1984).

Segundo Roy et al. (2011), os microrganismos do rúmen convertem rapidamente os NNP em proteína. A ureia é rapidamente hidrolisada em amônia, aumentando, consideravelmente, a concentração de amônia. Animais alimentados com ureia apresentam maior taxa de NUS (PRICE et al. 1972).

Wilson et al. (1975) observaram que o aumento da quantidade de ureia, de 1 para 3% na dieta de ruminantes, acarretou em acréscimos nas concentrações de amônia no rúmen e de ureia no sangue e na saliva. Conti et al. (2014), ao estudarem dietas contendo farelo de soja ou ureia, demonstraram que o nível de NUL é maior nas dietas com alta PB, independente da fonte de nitrogênio.

Cardoso et al. (2017), ao avaliarem a relação entre os diferentes tipos de sistemas alimentares e a composição do leite, não encontraram efeito ($p > 0,10$) entre NUL e os sistemas de alimentação. Porém, mesmo não havendo significância, os animais mantidos sob pastejo associado à cana-de-açúcar e ureia (PCU) obtiveram uma maior concentração de NUL quando comparados aos animais somente sob pastejo. Atribui-se ao fato de o PCU possuir maior teor de PB, com base na MS.

2.5.5. Manejo alimentar e sistema de produção

Práticas no manejo alimentar, como o fornecimento de ração completa, alimentos volumosos e concentrados ofertados separadamente e a frequência de alimentação, podem influenciar as concentrações de NUL. Animais que recebem ração completa ou são alimentados de forma contínua apresentam menor variação do nitrogênio ureico ao longo do dia (FOLMAN et al., 1981). Carroll et al. (1988) e Roseler et al. (1993) relatam que isso ocorre pelo fato de a dieta ser consumida mais frequentemente e em pequenas refeições. Além disso, no estudo de Ferguson et al. (1997) (citado por Roy et al., 2011), foram observados valores de NUL mais altos em animais que receberam alimentos volumosos e concentrados separadamente.

Quando comparados os sistemas de produção, vacas em pastejo e confinadas podem apresentar diferentes níveis de NUL. Alguns autores relatam que vacas em pastejo apresentaram uma concentração de ureia no leite maior do que as mantidas em confinamento (KAUFMANN, 1982; HOFFMAN; STEINHOFEL, 1990; CARLSSON; PEHRSON, 1993; CARLSSON et al., 1995; DOSKA et al., 2012). Kaufmann (1982) atribui esse dado ao excesso de formação de amônia no trato digestivo. O pastejo pode resultar em mudanças na quantidade e/ou disponibilidade de proteína na dieta ou no balanço de energia e proteína (CARLSSON; PEHRSON, 1993; CORREA; CUÉLLAR, 2004).

Segundo Carlsson et al. (1995), animais sob pastejo podem apresentar maior concentração de NUL devido ao alto teor de proteína bruta facilmente digestível na gramínea em relação ao conteúdo de energia. As mudanças na concentração do NUL foram mais regulares por toda lactação quando as vacas foram confinadas do que quando pastejavam. Isso se atribui ao fato de os fazendeiros controlarem melhor o que é ofertado às vacas sob confinamento, sendo, portanto, o consumo de alimentos mais estável e adequado a suas exigências.

2.5.6. Momento da amostragem

Ao estudar a variação do NUL ao longo do dia, alguns autores relatam que a concentração de ureia no leite é influenciada principalmente pelo tempo da última alimentação (SPEK et al. 2016). Portanto, os valores de NUL e NUS são também influenciados pelo momento de amostragem para

análise. Geralmente, o leite é amostrado para análise em apenas uma das ordenhas diárias. A associação de NUS e NUL (representada pelo coeficiente de determinação r^2) em leite coletado no período da manhã foi ligeiramente mais forte ($r^2 = 0,686$) do que a associação do leite coletado no período da tarde ($r^2 = 0,526$) (BRODERICK; CLAYTON, 1997).

Gustafsson e Palmquist (1993) observaram que o NUS atingiu seu pico quatro horas depois do início da refeição, voltando às concentrações iniciais obtidas antes das refeições em cinco a seis horas. Os autores também relataram que o NUL se comporta de maneira semelhante, porém atrasado em uma hora em relação ao pico do NUS. Miettinen e Juvonen (1990) e Van Duinkerken et al. (2005) apontaram que a concentração de ureia no leite foi maior aproximadamente três horas após a alimentação.

Segundo Roseler et al. (1993), animais que recebem dietas ricas em proteína solúvel apresentam um pico de NUS entre uma e duas horas após a alimentação; em dietas com altas concentrações de proteína não degradável, os valores mais altos de NUS são observados entre seis a oito horas após a alimentação.

A concentração de NUL se difere entre as ordenhas da manhã e da tarde. Ferguson et al. (1997) (citado por Roy et al., 2011) observaram que a concentração de NUL obtida na ordenha da tarde foi de 2,1 mg/dL maior do que a obtida na ordenha da manhã; as vacas eram alimentadas às 11h, ocorrendo o pico do NUL de quatro a seis horas após a alimentação. Os menores valores de NUL foram obtidos nas amostras de leite no período da manhã, pelo intervalo mais longo entre a alimentação e a ordenha ser algo comum em muitos rebanhos.

Kgole et al. (2012) ressaltam que além do horário de coleta o número de ordenhas pode afetar os valores de NUL, vacas ordenhadas duas vezes ao dia apresentaram maior média de NUL (15,5 mg / dL) em comparação às ordenhadas três vezes ao dia (13,4 mg / dL).

Devido à influência do tempo da última alimentação sobre os valores do NUL, os autores Miettinen e Junoven (1990) e Carlsson e Bergstrom (1994) sugerem que as amostras coletadas para a análise de nitrogênio ureico no leite devem ser coletadas em quantidades similares entre as ordenhas, ou seja, devem conter todas as ordenhas do dia ou, ainda, que sejam coletadas sempre no mesmo horário, mantendo-se também o horário da alimentação.

2.5.7. Estação do ano e contagem de células somáticas (CCS)

Ao investigar o efeito da estação do ano sobre as concentrações do NUL, Godden et al. (2001a) observaram que, no verão (de julho a setembro), em vacas confinadas no Canadá, o NUL foi maior. Porém, sugeriram que a associação da ureia com a estação do ano pode ser confundida com o estágio da lactação e efeitos nutricionais. Essa informação corrobora com os resultados encontrados por Carlsson et al. (1995) e Rajala-Schultz e Saville (2003): durante as estações mais quentes do ano, observaram valores mais altos de NUL. Fatehi et al. (2012) ao estudar rebanhos iranianos observaram que o NUL apresentou o menor nível em dezembro (13 mg / dL), aumentou nos meses de primavera e verão e atingiu o máximo em julho (18,8 mg / dL). A partir desse ponto, a concentração de nitrogênio uréico no leite diminuiu progressivamente até o outono-inverno. Já Arunvipas et al. (2002) observaram valores mais elevados de NUL no final do inverno, ao estudarem de vacas confinadas no Canadá. Doska et al. (2012) em estudo

na região Sul do Brasil, encontraram valores mais elevados no inverno (16,24 mg/dL), intermediários durante a primavera (15,88 mg/dL) e menores no outono e verão (15,69 e 15,60, respectivamente).

Moller et al. (1993) ao estudarem animais sob pastejo, atribuíram a variação do NUL às mudanças sazonais na proteína do pasto e nos componentes energéticos. Os autores relataram que o pasto na Austrália, durante a primavera, possui uma alta relação proteína/energia, o que resultou em uma elevada concentração de ureia no leite.

Roy et al. (2011), em uma revisão sobre a evolução do uso de NUL, apontam que são poucos os estudos que descrevem os efeitos de fatores não nutricionais associados à estação (clima, consumo de água, CMS — consumo de matéria seca — ou estágio da lactação). Portanto, é difícil explicar se a variação do NUL nas diferentes épocas do ano está relacionada aos diferentes manejos nutricionais ofertados ou a fatores não nutricionais.

Além disso, a estação do ano tem grande influência sobre a contagem de células somáticas (CCS) doença caracterizada pela inflamação da glândula, que além de reduzir a produção de leite, altera a sua composição. Alguns trabalhos descrevem a relação entre a CCS e o NUL, demonstrando que a mastite pode influenciar a concentração de ureia na amostra do quarto infectado.

Licata (1985), ao analisar quartos que apresentavam mastite subclínica através do teste *California Mastitis Test* (CMT), observou que estes possuíam menor concentração de NUL comparado aos quartos sadios. Essa informação corrobora com os resultados encontrados por DePeters e Ferguson (1992), Faust e Kilmer (1996), Godden et al. (2001b) e Johnson e Young (2003). Esses autores relataram uma correlação negativa entre a concentração de CCS e o NUL. Roy et al. (2001) indicaram que, à medida que a intensidade da infecção aumentou de leve para moderada, as concentrações de NUL diminuíram.

Arunvipas et al. (2002) relataram uma associação negativa, mas não linear, entre CCS e NUL. Observaram que, a cada aumento no escore linear da contagem de células somáticas das vacas em uma unidade, a concentração de NUL diminuiu em 0,4 mg/dL.

Entretanto, Eicher et al. (1999), utilizando o CMT, não observaram influência da CCS sobre as concentrações de NUL. Já Godden et al. (2001b) sugerem que, a menos que uma grande porção de vacas em rebanho tenha alta CCS, a ureia média no leite não deve ser muito afetada no âmbito de rebanho.

2.5.8. Produção de leite

As concentrações de NUL podem ser sensíveis às mudanças na produção de leite. Jonker et al. (1998), Oltner e Wiktorsson (1983), Oltner et al. (1985) e Broderick e Clayton (1997) apontam que o efeito da produção de leite sobre as concentrações de NUL possa ser resultado do confundimento entre produção de leite e a relação proteína/energia da dieta, uma vez que esses fatores são positivamente correlacionados.

Jonker et al. (1998) observaram uma concentração média de NUL de 13,51 mg/dL para rebanhos com potencial de produção de 10.000 kg de leite/vaca/lactação (305 dias); o valor de NUL poderia aumentar ou diminuir em 2,85 mg/dL para cada aumento ou diminuição de 2.000 kg de leite/vaca/lactação. Doska et al. (2012) encontraram uma correlação linear (r) moderada e positiva entre NUL e produção de leite ($r = 0,34$; $p < 0,01$), semelhante aos resultados encontrados por Johnson e Young (2003), Rajala-Schultz e Saville (2003) e Meyer et al. (2006). Em geral, a maior exigência de nitrogênio aumentou a concentração lactacional de NUL (JONKER et al., 1999).

Godden et al. (2001b) relataram associação positiva, mas não linear, entre o NUL e a produção de leite, ao salientar que essa associação possa ser resultado de maiores teores de proteína na dieta dos animais, com o objetivo de incrementar a produção de leite.

Embora vários estudos tenham relatado essa relação positiva entre a concentração de ureia e a produção de leite, alguns autores ou não encontraram relação (GUSTAFSSON; CARLSSON, 1993; BAKER et al., 1995; BUTLER et al., 1996; CARROLL et al., 1988; ROY et al., 2003) ou encontraram um efeito negativo (ISMAIL; HILLERS, 1996). MacLeod et al. (1984) salientam que, ao aumentar a proteína na dieta, aumenta-se o consumo de MS (matéria seca), resultando, assim, em um efeito indireto no aumento do consumo de energia.

2.5.9. Porcentagem de gordura no leite

Jonker et al. (1998) e Rajala-Schultz e Saville (2003) apontaram uma associação positiva entre a concentração de NUL e os teores de gordura. A alteração de $\pm 0,5$ unidade percentual de gordura resulta na alteração da concentração de NUL de $\pm 1,70$ mg/dL (JONKER et al., 1998). Uma possível explicação para essa associação é que altas quantidades de fibra em detergente neutro (FDN) podem aumentar o conteúdo de gordura do leite e, ao mesmo tempo, elevar os níveis de NUL, devido à alta degradabilidade de sua proteína (ROY et al., 2011).

Doska et al. (2012) encontraram, em seu estudo, uma correlação negativa muito fraca ($r = -0,11$; $p < 0,01$) entre NUL e gordura, semelhante aos relatos de Johnson e Young (2003). Johnson e Young (2003), ao estudarem vacas das raças Holandesas e Jersey, observaram que, quando o percentual de gordura do leite estava dentro da faixa considerada normal para cada raça, a variação do nível de NUL foi muito pequena. Porém, quando o percentual de gordura aumentou, a concentração de NUL diminuiu.

Godden et al. (2001a, 2001b) encontraram resultados diferentes ao analisar a associação entre as médias de gordura do leite e NUL para rebanho e vaca individual; foi encontrada uma relação positiva a nível de rebanho e não linear negativa a nível da vaca. Jaquette et al. (1986) e Klusmeyer et al. (1990), em seus estudos, não relataram associação entre NUL e o teor de gordura do leite.

Segundo Carlsson e Bergström (1994), a relação entre gordura do leite e NUL pode ser oriunda de variáveis nutricionais ou um efeito negativo da gordura do leite no NUL.

2.5.10. Porcentagem de proteína no leite

Jonker et al. (1999) concluíram que o aumento de 0,3 unidade percentual de proteína bruta no leite diminuiu a concentração de NUL em 1,2 mg/dL. Esse dado é compatível com os resultados encontrados por Johnson e Young (2003), que observaram que, com o aumento da porcentagem de proteína do leite, a concentração de NUL diminuiu. Roy et al. (2011) ressaltou a relação inversa entre NUL e proteína do leite, que poderia ser explicada pelas vias alternativas que o N pode seguir: incorporação na proteína do leite ou excreção como ureia.

Em vacas da raça Holandesa, o NUL foi menor ($p < 0,0002$) quando a proteína do leite foi maior (3,2% *vs.* $< 3,0\%$) para a produção de leite, variando de 27,31 a 63,6 kg. Os autores acreditam que os teores de proteína do leite, além do NUL, possam ser utilizados para determinar se a nutrição está adequada. Porém, não foi observada associação entre o NUL e proteína do leite para vacas da raça Jersey.

Os autores atribuem isso ao fato de as vacas dessa raça estarem em rebanhos diferentes do que vacas da raça Holandesa, podendo as diferentes dietas ser responsáveis por diferenças entre as raças (JOHNSON; YOUNG, 2003).

No entanto, em outros estudos (KLUSMEYER et al., 1990; GODDEN et al., 2001b; RAJALA-SCHULTZ; SAVILLE, 2003; SHARMA et al., 2009), não encontraram relação significativa entre a proteína total do leite e o NUL.

2.5.11. Número de lactações (NL)

Kaim et al. (1983) e Bruckental et al. (1989) afirmam que vacas multíparas são mais afetadas por desbalanços proteicos, embora Carroll et al. (1988) relatem que vacas primíparas sejam mais suscetíveis a esses desbalanços.

Segundo Doska et al. (2012), vacas em primeira lactação apresentam maior concentração de NUL do que vacas de segunda lactação ou mais (16,16, 15,95 e 15,45 mg/dL, respectivamente). O que corrobora com os resultados de Fatehi et al. (2012), que ao estudar vacas Holandesas, encontraram uma concentração média de nitrogênio uréico no leite menor em vacas de terceira ou maior lactação que as primeira ou segunda lactação. Jonker et al. (1998), utilizando modelos para prever mudanças no NUL devido à paridade, também observaram que vacas em primeira lactação apresentavam maior teor de NUL. Porém, em outro estudo de Jonker et al. (1999), as concentrações do NUL foram em média 16,3 mg/dL para a primeira lactação, 16,8 para a segunda lactação e 16,2 para a terceira lactação.

Doska et al. (2012) observou que animais de primeira paridade possuem maior nível de NUL e atribuíram essa diferença pelo fato de animais em primeira lactação serem nutricionalmente mais exigentes pois, além de produzir leite estes ainda estão em fase de crescimento, portanto em busca de satisfazer suas exigências podem receber excesso de proteína bruta na dieta, uma vez que, apesar de menos produtivas é comum serem alimentadas com a mesma dieta de vacas adultas de alta produção.

Já Oltner et al. (1985), Arunvipas et al. (2003), Rajala-Schultz e Saville (2003), Johnson e Young (2003) e Kgole et al. (2012) relataram valores mais baixos de NUL em animais de primeira lactação. Alguns autores acreditam que o metabolismo mais rápido desses animais gera uma maior eficiência de utilização de aminoácidos e, conseqüentemente, um menor teor de ureia.

Carlsson et al. (1995) encontraram diferenças no NUL, de acordo com o número de lactações, somente quando os animais estavam confinados, e não em pasto. Quando confinadas, vacas multíparas tiveram maior NUL (14,4 mg/dL) do que vacas primíparas. Roy et al. (2011) atribuíram a variação observada no NUL, em relação ao número de lactações dos animais, a mudanças na composição nutricional da dieta que podem ocorrer entre grupos de paridades e estágios de lactação diferentes. Também relataram haver diferenças fisiológicas e comportamentais que afetariam o NUL.

Ao estudar a influência do número da paridade sobre os teores de NUL, Johnson e Young (2003) observaram que, para vacas da raça Holandesa de segunda paridade, apresentaram valores de NUL maiores do que as de primeira ou terceira e maior paridade (0,2 mg/dL). Já para vacas da raça Jersey, valores maiores de NUL foram encontrados em animais de primeira ou segunda lactação do que as de terceira lactação e maior paridade. Os autores relataram que as diferenças gerais são pequenas e questionáveis.

Entretanto, Schepers e Meijer (1998), Eicher et al. (1999) e Arunvipas et al. (2002) não reportaram diferenças na concentração de NUL entre animais primíparas e múltiparas. Eicher et al. (1999) afirmaram que a influência do número de partos encontrada por outros autores provavelmente reflete a diferença na gestão e alimentação em vacas primíparas.

2.5.12. Estágio da lactação

Segundo Stoop et al. (2007), o dia da amostragem para realização da análise de NUL pode explicar até 58% da variação no NUL. A produção de leite das vacas aumenta do parto até o pico de produção num período de poucas semanas. Ocorre, então, um declínio gradual até a secagem (BATRA, 1986). Jonker et al. (1999), ao modelar concentrações esperadas de NUL durante a lactação, demonstraram que as concentrações de NUL se assemelham à forma típica de uma curva de lactação. No entanto, Doska et al. (2012) encontraram um pico nas concentrações de NUL entre 151 e 180 dias no leite (16,35 mg/dL), enquanto a produção de leite atingiu o pico em torno de 45-60 dias (NRC, 2001). Os autores atribuem esse fato ao maior consumo de matéria seca e, consequentemente, de proteína bruta durante esse estágio de lactação.

Outros autores reportaram que, no primeiro mês de lactação, foram encontrados níveis mais baixos de NUL (CARLSSON et al., 1995; EMANUELSON et al., 1993; GODDEN et al., 2001a; RAJALA-SCHULTZ et al., 2001; ARUNVIPAS et al., 2002). Esse resultado contraria o esperado, uma vez que vacas de alta produção têm dificuldade em atender suas necessidades energéticas no início da lactação, estando em balanço energético negativo (RAJALA-SCHULTZ et al., 2001). Carlsson et al. (1995) e Arunvipas et al. (2002) acreditam que as baixas concentrações de NUL encontradas no início da lactação possam estar relacionadas com a incapacidade de as vacas ingerirem quantidades suficientes de alimento para satisfazer suas exigências nesse período.

Godden et al. (2001b) relataram, uma correlação positiva, mas não linear entre o NUL e os dias no leite. Observaram concentrações de NUL menores nos primeiros 60 dias, que aumentaram entre 60 e 150 e diminuíram após 150 dias de lactação. Esses resultados foram parecidos com os de Arunvipas et al. (2002), que encontraram, nos primeiros 30 dias, menor nível de NUL (10,14 mg/dL), atingindo seu pico no quarto mês de lactação (11,80 mg/dL) e diminuindo no final da lactação (10,56 mg/dL). Os autores acreditam que o consumo irregular de MS, a adaptação da microbiota ruminal e a capacidade absorviva podem ter causado as diferentes concentrações no nível de NUL durante os diferentes estágios de lactação.

Lucci et al. (2006) relataram que o nível de NUL aumentou ao longo das primeiras semanas após o parto. Atribuíram isso ao fato de as vacas, no início da lactação, normalmente receberem dietas com excedentes em proteína, buscando incrementos da produção de leite. Já na lactação tardia, como a produção de leite diminui, a exigência de proteína diminui e os valores de NUL também devem diminuir. Já Schepers e Meijer (1998) não encontraram influência sobre o estágio da lactação e a concentração de NUL quando a alimentação dos animais foi controlada por fatores nutricionais, sugerindo que os fatores não nutricionais são de menor importância para explicar a associação entre NUL e estágio da lactação.

2.5.13. Raça e peso vivo

Doska et al. (2012), em um estudo realizado no Estado do Paraná, demonstraram um efeito da raça do animal sob os valores de NUL. As médias para os animais da raça Holandesa foram menores do que para animais mestiços, Jersey e Pardos-Suíços: 14,18; 15,49; 16,12 e 17,62 mg/dL, respectivamente. Porém, os autores ressaltaram que 94,9% das análises pertenciam a animais da raça Holandesa; outras raças eram minoritárias no banco de dados disponível para o estudo, o que pode ter influenciado os resultados. Apontaram também que, por se tratar de uma raça dominante, as dietas desses rebanhos podem ter sido formuladas de acordo com exigências da raça Holandesa para produção e composição do leite. Consequentemente, estas poderiam ter maior eficiência na utilização do nitrogênio e, portanto, menores valores de NUL. Esses resultados divergem dos encontrados por Johnson e Young (2003), que observaram maiores valores de NUL para vacas da raça Holandesa (15,5 mg/dL) quando comparadas às da raça Jersey (14,1 mg/dL). Os autores apontam que essa relação precisa de mais estudos, pois não ficou claro o que causou essa diferença, ressaltando as diferenças na composição e produção de leite das raças ou as diferentes estratégias de manejo e alimentação. Já Kauffman e St-Pierre (2001) não relataram diferença entre as concentrações de NUL entre as raças Holandesa e Jersey (9,44 e 9,47 mg/dL, respectivamente).

Quanto ao peso corporal, Jonker et al. (1998) e Kohn et al. (2002) relataram que é negativamente correlacionado com o NUL. Jonker et al. (1998) apontaram que cada 50 kg de peso vivo representa uma variação de 0,42 mg/dL na concentração de NUL, sendo menor a concentração de NUL quanto maior for o peso do animal.

2.6. Nível de ureia e sua influência sobre o desempenho reprodutivo dos animais

O desempenho reprodutivo de vacas em lactação associado ao nível de ureia nos animais é um assunto controverso. O elevado consumo de proteína bruta pode ou não ter efeitos indesejados sobre a taxa de concepção, sobrevivência embrionária, entre outros.

Jonker et al. (1998) observaram que o excesso de proteína na dieta, além de elevar os custos da propriedade, sem ganho em produção de leite, pode diminuir a eficiência reprodutiva dos rebanhos diminuindo a fertilidade das vacas.

Dentre as hipóteses para explicar os efeitos do desbalanço proteico na dieta sobre o desempenho produtivo dos animais, Staples et al. (1990) apontam efeitos diretos e indiretos. Quanto aos efeitos diretos, os autores apontam que as altas concentrações de ureia, amônia ou outros compostos nitrogenados agiriam sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano, os gametas, os embriões ou o sistema imune, afetando, assim, o processo de fertilização, o desenvolvimento embrionário ou a implantação do embrião. Já os efeitos indiretos do excesso de proteína na dieta afetariam a reprodução por conta do aprofundamento do balanço energético negativo, provocado pelo aumento da produção de leite e devido ao maior aporte proteico ou pelo desvio de energia para eliminação da amônia do organismo da vaca.

Tanto o excesso de PDR como de PNDR, em relação às exigências do animal, foram apontados por Ferguson e Chalupa (1989) por diminuir a taxa de concepção, sendo mais expressiva no excesso de PNDR. Em média, a taxa de concepção diminuiu em 12%, podendo chegar a 20% (BUTLER et al., 1995). Butler et al. (1996) concluíram que concentrações de NUP e NUL maiores que 19 mg/dL estão associadas com a redução de aproximadamente 20% na taxa de prenhez após inseminação artificial (IA) em bovinos leiteiros. Há a diminuição significativa na taxa de concepção; autores como Kaim et al. (1983), Bruckental et al. (1989), Canfield et al. (1990), Butler e Elrod (1991) e Larson et al. (1997) demonstram essa diminuição em vacas que apresentam concentrações de NUS iguais a 17, 32, 19, 16 e 17 mg/dL, respectivamente. Vacas com valores de NUL de 12-13,99 e 14-15,99 mg/dL tiveram maior fertilidade (15 e 8%, respectivamente). Sendo sugerido que os níveis de NUL <12 e >18 mg/dL estão adversamente associados com a fertilidade de vacas leiteiras (Nourozi et al., 2010). Já Folman et al. (1981), Howard et al. (1987) e Carroll et al. (1988), em relação a vacas com concentrações de NUL 15, 26 e 24 mg/dL, respectivamente, não observaram efeito negativo sobre a taxa de concepção dos animais. Staples et al. (1990) concluíram que os valores de NUS não são indicadores confiáveis para detecção de desordens reprodutivas em um rebanho, porém, apontaram que valores acima de 16 mg/dL devam servir como sinal de alerta para os produtores.

Aumentos na concentração de NUL parecem ser negativamente relacionados à fertilidade em vacas leiteiras. Rajala-Schultz et al. (2001) reportaram que vacas com NUL abaixo de 10 mg/dL obtinham 2,4 vezes mais chances de estarem prenhes. Já vacas com níveis entre 10 e 12,7 mg/dL obtiveram 1,4 vezes mais chances, comparadas a vacas com níveis de NUL acima de 15,4 mg/dL. Já Grande et al. (2009) relataram que vacas com NUL abaixo de 10,0 mg/dL apresentaram pior taxa de gestação, comparadas a vacas com NUL acima de 10,1 mg/dL.

2.7. Ureia e poluição ambiental

A pecuária tem sido apontada como uma das principais fontes de poluição ambiental por nitrogênio, seja através do estrume produzido (fezes e urina), da contaminação dos solos e de águas, bem como na formação de gases com efeito estufa (MEYER, 2000; ARRIAGA et al., 2009; EDOUARD et al., 2019). A amplitude da poluição ambiental depende de fatores como o tipo de instalações, o processo de remoção e tratamento de dejetos e, sobretudo, a composição da dieta alimentar dos animais.

As vacas secretam em média 25-35% do nitrogênio consumido no leite. Segundo Chase (1994), o restante é quase todo excretado nas fezes e na urina. Dessa forma, parte considerável do nitrogênio consumido contamina o ar com amônia volatilizada e os rios e lençóis freáticos com nitrato lixiviado (VAN HORN et al., 1994; HOF et al., 1997).

Várias medidas vêm sendo propostas com o objetivo de diminuir a excreção do nitrogênio no meio ambiente. Exemplos dessas medidas são a formulação de dietas mais balanceadas para os animais através de uma nutrição precisa e aumento da produtividade por animal (PLACE; MITTLOEHNER, 2010). A concentração de NUL é um dos vários fatores que permite prever as emissões de amônia do estercor bovino leiteiro (Burgos et al. 2010).

A excreção de nitrogênio nas fezes e na urina é agravada pelo desbalanceamento das dietas quanto a quantidades excessivas de PDR e PNDR, além do perfil inadequado dos aminoácidos ou falta

de energia. À medida que a produção aumenta, a excreção de nitrogênio nas fezes e na urina diminui por unidade de leite produzida (ST-PIERRE; THRAEN, 1999).

Powell et al. (2011), relataram reduções na emissão de NH_3 de 10,3 a 28,2% quando o NUL declinou de 14 para 10 mg / dL. Em outro estudo, Powell et al. (2014), observaram que a cada decréscimo de 1 mg/dL de NUL proporcionou uma diminuição diária associada na ureia urinária de 16,6 g por vaca, o que diminuiu as emissões de NH_3 do esterco em 7 a 12% .

Segundo Edouard et al., (2019) a redução no nitrogênio (N) da dieta é uma maneira eficaz de reduzir a excreção de N e as emissões de NH_3 . Em dietas contendo baixa concentração de proteína (12% PB), foi observado uma redução na excreção de uréia-N e NH_3 -N, em dietas com alta proteína (18% PB), a excreção foi três vezes maior.

Kohn et al. (1997) demonstraram que, ao melhorar a eficiência de utilização do nitrogênio dietético em 50%, um rebanho leiteiro pode excretar cerca de 40% menos nitrogênio para o ambiente. Jonker et al. (1998) concluíram que, a cada aumento de 1 mg/dL de nitrogênio ureico no sangue do animal, havia excreção de 12,54 gramas de nitrogênio/vaca/dia na urina.

2.8. Ureia e custo

Na criação de ruminantes, tanto em confinamento quanto em pasto, a alimentação é responsável por grande parte dos custos — de 60 a 70% (SILVA et al., 2001). A ingestão em excesso de PB está relacionada ao maior custo da dieta e ao aumento da excreção de nitrogênio ao ambiente, causando grande impacto sobre a atividade leiteira (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2005; PAIVA et al., 2013; HRISTOV et al. 2017). A redução na produção de leite quando os animais recebem níveis mais elevados de PB na dieta, uma vez que a excreção do excesso de nitrogênio do organismo do animal tem um custo energético que poderia ser destinado à produção de leite. Assim, a suplementação da dieta da vaca com proteína deve ser criteriosa, considerando não só a quantidade na dieta, como também a sua degradabilidade no rúmen.

Quando o excesso de proteína é removido da dieta de vacas em lactação, as excreções diárias de N na urina, fezes e leite podem ser reduzidas sem penalizar à produção de leite (BARROS et al. 2019).

O custo energético líquido da síntese de ureia não está claramente definido. O gasto de quatro moléculas de adenosina trifosfato (ATP) para cada molécula de ureia sintetizada parece ser contrabalanceado — em parte, pela formação de uma molécula de fumarato no ciclo da ureia. Este, por sua vez, libera uma nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) no Ciclo de Krebs, resultando na síntese de três moléculas de ATP (KOZLOSKI, 2002).

Segundo Godden et al. (2001a), o teste de NUL tem que se demonstrar útil ao produtor. Para isso, os resultados da análise devem ser associados com algumas medidas econômicas ou efeitos biológicos relevantes, relacionados à eficiência da utilização de nitrogênio. Sugere-se que um dos benefícios da identificação e correção de deficiências, excessos ou desequilíbrios nas concentrações de proteína e energia da dieta poderia proporcionar a melhoria da saúde e produtividade do animal. Portanto, o uso mais eficiente da proteína poderia resultar em menores custos de produção, aumentando a rentabilidade das fazendas.

Roseler (1990) estimou um custo de US\$ 23.6000.000 (US\$ 0,09/vaca por dia) para a indústria de laticínios no Estado de Nova York por causa da alimentação com excesso de proteína para vacas leiteiras. Ele propôs um retorno potencial entre US\$ 0,01 e US\$ 3,96/vaca por mês na economia de ração devido ao monitoramento do NUL. Nelson (1996) projetou uma série de cenários que retornariam US\$ 10,00 para cada US\$ 1,00 investido em testes de ureia. Jonker e Kohn (1998) relataram que o incremento de 16 para 20 mg/dL no NUL resultaria em um gasto adicional de US\$70,00/vaca/ano com a aquisição de suplementos proteicos.

Arias and Alonso (1997) reportaram que excesso de PB na dieta foi relacionado a menores produções de leite, a altos níveis de NUL e a um maior custo com a alimentação. Além disso, elevadas concentrações de ureia no leite podem ter implicações para a indústria, pois altos níveis de NUL têm sido associados a características alteradas de processamento de leite. O aumento nas concentrações de NUL acarretam menor rendimento industrial para produção de queijos, uma vez que parte da proteína verdadeira, formada por caseína e proteínas do soro, é substituída pelo nitrogênio não protéico; notadamente, a ureia (FERREIRA et al. 2006).

2.9. Amostra de tanque ou individual

O NUL mensal de amostras individuais, calculando posteriormente uma média por lote, seria o adequado para avaliação da dieta (ROY et al. 2011), pois permite um tempo de adaptação caso ocorra alguma mudança na alimentação. A amostra retirada do tanque representou baixo potencial de avaliação da dieta, uma vez que esta não costuma ser a mesma para todo rebanho, sendo, portanto, a média por lote mais adequada. No entanto, para animais consumindo dietas potencialmente variáveis, como pastejo em diferentes piquetes, maiores frequências de análises seriam recomendadas. Nelson (1996) observou que as amostras de tanques diferem da média de todas as vacas em até 3,0 a 4,5 mg/dL.

Roy et al. (2011) sugerem o uso de amostras de tanque para determinar o nível médio do rebanho e ressaltam o menor custo e facilitação do trabalho. No entanto, observam que ainda não está claro o quão confiável é utilizar amostras de tanque. Segundo os autores, a análise de tanque é a soma de valores variados de NUL e produção de leite, sendo difícil determinar se um grupo de vacas com níveis altos de NUL não foi diluído por outro grupo de vacas com menores valores. O NUL realizado a partir de amostra de tanque mostra o status do rebanho, sem a capacidade de tirar conclusões sobre subgrupos de gado dentro de um rebanho (ARUNVIPAS et al., 2004).

2.10. Tamanho da amostra

Em virtude da variação dos valores de referência para o NUL, observada em diversos estudos, Jonker et al. (1998) recomendam que pelo menos dez vacas sejam amostradas por lote, para maior acurácia de resultado.

Ao revisarem a literatura, Broderick and Clayton (1997) propõem que, para obter uma variação de até 1,0 mg/dL, 16 vacas deveriam ser amostradas, enquanto que, para se obter uma variação de até 2,0 mg/dL, quatro vacas amostradas seriam o suficiente. Por sua vez, Ferguson et al. (1997) (citado por Roy

et al., 2011) recomendou que pelo menos oito vacas fossem amostradas para produzir resultados confiáveis.

2.11. Padrão de referência

Diversos trabalhos publicados descrevem diferentes padrões de referência para o teor de NUL nos rebanhos. Segundo Jonker et al. (1998), os padrões de referência devem levar em conta o potencial de produção, o número médio de partos, o peso vivo, a porcentagem de gordura no leite e o número de dias em lactação. Para os autores, os padrões de referência podem variar entre 10 e 16 mg/dL dependendo da produtividade do rebanho. Em seu estudo, vacas produzindo 8.000, 10.000, e 12.000 kg de leite/vaca/lactação (305 dias) tiveram valores médios de NUL, 10.66, 13.51 e 16.36 mg/dL, respectivamente.

Kohn et al. (2002) sugeriram que médias em torno de 12 a 16 mg/dL podem ser muito altas e, ao estudarem rebanhos de vacas da raça Holandesa, apontaram uma redução nos valores-alvo para NUL, de 8 a 12 mg/dL. O padrão de referência, de 10 a 14 mg/dL, é recomendado por Jonker e Kohn (1998), Jonker et al. (1998), Rajala-Schultz e Saville (2003), Johnson and Young (2003), Cordeiro et al. (2007) e Roy et al. (2011). Meyer *et al.* (2006) e Simili e Lima (2007) estabelecem valores entre 10 a 16 mg/dL. Knorr (2002) sugere valores que oscilam entre 12 a 17 mg/dL. Peres (2001) sugere a faixa de 12 a 18 mg/dL.

Broderick e Clayton (1997) observam que a concentração média de NUL foi de 14,8 mg/dL e houve um desvio-padrão de 2,07 mg/dL ao revisarem a literatura. Já Ferguson et al. (1997) (citado por Roy et al., 2011), observando vários rebanhos nos Estados Unidos, relataram uma concentração média de 14 mg/dL e um desvio-padrão de 4,03 mg/dL.

Caldeira (2005) relata que níveis de NUL abaixo de 10 mg/dL podem significar ou uma deficiência de proteína na dieta ou uma alta eficiência no aproveitamento da proteína degradável no rúmen, com aproveitamento total de amônia à disposição das bactérias. Níveis acima de 15 mg/dL podem indicar excesso de PDR ou carência de energia na dieta, absorção excessiva de aminoácidos excedentes às necessidades do animal ou, ainda, a subnutrição grave, gerando catabolismo das reservas corporais.

REFERÊNCIAS

- AMARAL-PHILLIPS, D. Milk urea nitrogen: A nutritional management tool?. **UK University of Kentucky**, 2017.
- ARIAS, J.; ALONSO, A. N. Importância dos níveis de nitrogênio uréico no leite e no sangue de vacas leiteiras. In: Latin América Animal Science Meeting, **Anais...**1997.
- ARRIAGA, H. et al. Nutritional and management strategies on nitrogen and phosphorus use efficiency of lactating dairy cattle on commercial farms: An environmental perspective. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, p. 204–215, 24 dez. 2009.
- ARUNVIPAS, P. et al. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in Ayrshire dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. suppl 1, p. 320, 2002.

- ARUNVIPAS, P. et al. Bulk tank milk urea nitrogen: Seasonal patterns and relationship to individual cow milk urea nitrogen values. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 3, p. 169–174, jul. 2004.
- BAKER, L. D.; FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Responses in Urea and True Protein of Milk to Different Protein Feeding Schemes for Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 11, p. 2424–2434, 12 abr. 1995.
- BARROS, T. et al. Short communication: Milk urea nitrogen as a predictor of urinary nitrogen and urea nitrogen excretions of late-lactation dairy cows fed nitrogen-limiting diets. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 1–7, 2019.
- BATRA, T. R. COMPARISON OF TWO MATHEMATICAL MODELS IN FITTING LACTATION CURVES FOR PURELINE AND CROSSLINE DAIRY COWS. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 66, n. 2, p. 405–414, 22 mar. 1986.
- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A Statistical Evaluation of Animal and Nutritional Factors Influencing Concentrations of Milk Urea Nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2964–2971, 12 abr. 1997.
- BRUCKENTAL, I. et al. Effects of source and level of protein on milk yield and reproductive performance of high-producing primiparous and multiparous dairy cows. **Animal Production**, v. 48, n. 2, p. 319–329, 1989.
- BURGOS, S. A. et al. Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: Relation of milk urea nitrogen to ammonia emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 6, p. 2377–2386, jun. 2010.
- BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAM, S. W. Plasma and Milk Urea Nitrogen in Relation to Pregnancy Rate in Lactating Dairy Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 4, p. 858–865, 1996.
- BUTLER, W. R.; CHERNEY, D. J. R.; ELROD, C. C. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers (USA), **Anais...**1995.
- BUTLER, W. R.; ELROD, C. C. Nutrition and reproduction relationships in dairy cattle. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers (USA), **Anais...**1991.
- CALDEIRA, R. M. Monitoring the adequacy of feeding plan and nutritional status in ewes. **RPCV**, v. 100, n. (555-556), p. 125–139, 2005.
- CANFIELD, R. W.; SNIFFEN, C. J.; BUTLER, W. R. Effects of Excess Degradable Protein on Postpartum Reproduction and Energy Balance in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 9, p. 2342–2349, 29 jun. 1990.
- CARDOSO, R. B. et al. Produção e composição química do leite de vacas em lactação mantidas a pasto submetidas à diferentes sistemas alimentares. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 18, n. 1, p. 113–126, 2017.
- CARLSSON, J.; BERGSTRÖM, J. The diurnal variation of urea in cow's milk and how milk fat content, storage and preservation affects analysis by a flow injection technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 35, n. 1, p. 67–77, 1994.

- CARLSSON, J.; BERGSTROM, J.; PEHRSON, B. Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation and herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow's milk. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 36, n. 2, p. 245–254, 1995.
- CARLSSON, J.; PEHRSON, B. The Relationships Between Seasonal Variations in the Concentration of Urea in Bulk Milk and the Production and Fertility of Dairy Herds. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 40, n. 1–10, p. 205–212, 1993.
- CARLSSON, J.; PEHRSON, B. The influence of the dietary balance between energy and protein on milk urea concentration. Experimental trials assessed by two different protein evaluation systems. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 35, n. 2, p. 193–205, 1994.
- CARROLL, D. J. et al. Influence of Protein Intake and Feeding Strategy on Reproductive Performance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 12, p. 3470–3481, 14 abr. 1988.
- CHALUPA, W. Discussion of Protein Symposium. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 5, p. 1134–1146, 20 abr. 1984.
- CHASE, L. E. Environmental considerations in developing dairy rations. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers (USA), **Anais...**1994.
- CISZUK, P.; GEBREGZIABHER, T. Milk urea as an estimate of urine nitrogen of dairy cows and goats. **Acta Agriculturae Scandinavica A: Animal Sciences**, v. 44, n. 2, p. 87–95, 1994.
- CLAYPOOL, D. W.; PANGBOAN, M. C.; ADAMS, H. P. Effect on Dietary Protein on High-Producing Dairy Cows in Early Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 5, p. 833–837, 25 abr. 1980.
- COLMENERO, J. J. O.; BRODERICK, G. A. Effect of Dietary Crude Protein Concentration on Milk Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 5, p. 1704–1712, 19 mar. 2006.
- CONTI, L. H. A. et al. Nitrogen balance and milk composition of dairy cows fed urea and soybean meal and two protein levels using sugar cane based diets. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 51, n. 3, p. 242, 19 dez. 2014.
- CORASSIN, C. H. et al. Avaliação de ferramentas utilizadas no balanceamento de dietas completas para vacas em lactação. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 2, 2 jul. 2004.
- CORDEIRO, C. F. de A. et al. Consumo e digestibilidade total dos nutrientes e produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta na dieta contendo cana-de-açúcar e concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 2118–2126, 2007.
- CORREA, H. J.; CUÉLLAR, A. M. ; Aspectos clave del ciclo de la úrea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. **Rev Col Cienc Pec.** v. 17, n. 1, 2004.
- DePETERS, E. J.; FERGUSON, J. D. Nonprotein Nitrogen and Protein Distribution in the Milk of Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3192–3209, 12 abr. 1992.
- DIJKSTRA, J.; FRANCE, J.; DAVIES, D. R. Different Mathematical Approaches to Estimating Microbial Protein Supply in Ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 12, p. 3370–3384, 13 maio 1998.
- DOSKA, M. C. et al. Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows. **R. Bras. Zootec.**, v.41, n.3, p.692-697, 2012.
- EDOUARD, N. et al. Influence of diet and manure management on ammonia and greenhouse gas emissions from dairy barns. **Animal**, v.1, n. 10, 18 jun 2019.

- EDWARDS, J. S.; BARTLEY, E. E.; DAYTON, A. D. Effects of Dietary Protein Concentration on Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 2, p. 243–248, 25 abr. 1980.
- EICHER, R.; BOUCHARD, E.; TREMBLAY, A. Cow level sampling factors affecting analysis and interpretation of milk urea concentrations in 2 dairy herds. **Canadian Veterinary Journal**, v. 40, n. 7, p. 487–492, 1999.
- EMANUELSON, M.; AHLIN, K. Å.; WIKTORSSON, H. Long-term feeding of rapeseed meal and full-fat rapeseed of double low cultivars to dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 33, n. 3–4, p. 199–214, 1993.
- FATEHI, F. et al. Review of the relationship between milk urea nitrogen and days in milk, parity, and monthly temperature mean in Iranian Holstein cows. **J. Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 5156–5163.
- FAUST, M. A.; KILMER, L. H. Determining variability of milk urea nitrogen reported by commercial testing laboratories. **Dairy Report: Iowa State University**, 1996.
- FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Impact of Protein Nutrition on Reproduction in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 3, p. 746–766, 13 abr. 1989.
- FERREIRA, M. G. et al. Ureia e qualidade do leite. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, FAMED, ano III, n. 06, jan. 2006
- FOLMAN, Y. et al. Performance, Rumen and Blood Metabolites in High-Yielding Cows Fed Varying Protein Percents and Protected Soybean. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 5, p. 759–768, 23 abr. 1981.
- FRANK, B.; SWENSSON, C. Relationship Between Content of Crude Protein in Rations for Dairy Cows and Milk Yield, Concentration of Urea in Milk and Ammonia Emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 7, p. 1829–1838, 31 mar. 2002.
- GODDEN, S. M. et al. Milk Urea Testing as a Tool to Monitor Reproductive Performance in Ontario Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 6, p. 1397–1406, 2001a.
- GODDEN, S. M. et al. Relationships between milk urea concentrations and nutritional management, production, and economic variables in Ontario dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 5, p. 1128–39, 2001b.
- GRANDE, P. A. et al. Monitoring the Nutritional and Reproductive State of Dairy Cows Through the Presence of Urea in Milk. **Arch. Biol. Technol.** v. 52, p. 249–258, 2009.
- GULINSKI, P.; SALAMONCZYK, E.; MLYNEK, K. Improving nitrogen use efficiency of dairy cows in relation to urea in milk – a review. **Animal Science Papers and Reports**. v. 34, n. 1, p. 5–24, 2016.
- GUSTAFSSON, A. H.; CARLSSON, J. Effects of silage quality, protein evaluation systems and milk urea content on milk yield and reproduction in dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 37, n. 1–2, p. 91–105, 1993.
- GUSTAFSSON, A. H.; PALMQUIST, D. L. Diurnal Variation of Rumen Ammonia, Serum Urea, and Milk Urea in Dairy Cows at High and Low Yields. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 475–484, 12 abr. 1993.
- HAMED, D.; FAVERDIN, P.; VERITÉ, R. Effects of the level and source of dietary protein on intake and milk yield in dairy cows. **Animal Research**, v. 50, n. 3, p. 205–211, maio 2001.

- HAMMOND, A. C. Effect of dietary protein level, ruminal protein solubility and time after feeding on plasma urea nitrogen and the relationship of plasma urea nitrogen to other ruminal and plasma parameters. **Journal of Animal Science**, v. 57, n. suppl 1, p. 435, 1983.
- HERRERA-SALDANA, R. et al. Influence of Synchronizing Protein and Starch Degradation in the Rumen on Nutrient Utilization and Microbial Protein Synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 1, p. 142–148, 29 jun. 1990.
- HINDERS, R. MUN indicates adequacy of protein, carbohydrates in milking cow rations. **Feedstuffs (USA)**, 1996.
- HRISTOV, A. N. et al. Short communication: Variability in milk urea nitrogen and dairy total mixed ration composition in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 1579–1584, 2017.
- HOF, G. et al. Milk Urea Nitrogen as a Tool to Monitor the Protein Nutrition of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 12, p. 3333–3340, 17 maio 1997.
- HOFFMAN, M.; STEINHOFEL, O. Possibilities and restriction in using milk urea concentrations as markers of energy and protein balance. **Mh. Vet. Med**, v. 45, p. 223–227, 1990.
- HOGAN, J. P. Protein and amino acid nutrition in the high producing cow. Quantitative Aspects of Nitrogen Utilization in Ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 58, n. 8, p. 1164–1177, 28 abr. 1974.
- HOWARD, H. J. et al. Influence of Dietary Protein on Reproductive Performance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 8, p. 1563–1571, 17 abr. 1987.
- HUBER, J. T.; KUNG, L. Protein and Nonprotein Nitrogen Utilization in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 6, p. 1170–1195, 23 abr. 1981.
- HUHTANEN, P. et al. Evaluation of between-cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n.5, p. 3182–3196, Maio, 2015.
- IPHARRAGUERRE, I. R.; CLARK, J. H. Impacts of the Source and Amount of Crude Protein on the Intestinal Supply of Nitrogen Fractions and Performance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. E22–E37, 19 mar. 2005.
- ISMAIL, A. K.; HILLERS, J. K. Effect of Selection for Milk Yield and Dietary Energy on Yield Traits, Bovine Somatotropin, and Plasma Urea Nitrogen in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 4, p. 682–688, 12 abr. 1996.
- JAQUETTE, R. D.; RAKES, A. H.; CROOM, W. J. Effects of Dietary Protein on Milk, Rumen, and Blood Parameters in Dairy Cattle Fed Low Fiber Diets. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 4, p. 1026–1034, 18 abr. 1986.
- JOHNSON, R. G.; YOUNG, A. J. The Association Between Milk Urea Nitrogen and DHI Production Variables in Western Commercial Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 9, p. 3008–3015, 30 mar. 2003.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A. MUN testing: useful but ambiguous. **Hoard's Dairyman**, v. 143, n. 6, p. 252, 1998.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using Milk Urea Nitrogen to Predict Nitrogen Excretion and Utilization Efficiency in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 10, p. 2681–2692, 5 abr. 1998.

- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk Urea Nitrogen Target Concentrations for Lactating Dairy Cows Fed According to National Research Council Recommendations. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 6, p. 1261–1273, 1999.
- KAIM, M. et al. The effect of protein intake and lactation number on post-partum body weight loss and reproductive performance of dairy cows. **Animal Production**, v. 37, n. 2, p. 229–235, 1983.
- KAUFFMAN, A. J.; ST-PIERRE, N. R. The Relationship of Milk Urea Nitrogen to Urine Nitrogen Excretion in Holstein and Jersey Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 10, p. 2284–2294, 3 abr. 2001.
- KAUFMANN, W. Variation in composition of the raw material milk with special regard to the urea content. **Milchwissenschaft (Germany, FR)**, 1982.
- KGOLE, M. L.; VISSER, C.; BANGA, C. B. Environmental factors influencing milk urea nitrogen in South African Holstein cattle. **South African Journal of Animal Science**, v. 42, n. 5, 2012.
- KLUSMEYER, T. H. et al. Effects of Source and Amount of Protein on Ruminal Fermentation and Passage of Nutrients to the Small Intestine of Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 12, p. 3526–3537, 3 jun. 1990.
- KNORR, M. O leite como indicador nutricional em vacas. In. **GONZÁLEZ, F.H.D. Seminário: Bioquímica do tecido animal** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul. 2002.
- KOHN, R. A. et al. A sensitivity analysis of nitrogen losses from dairy farms. **Journal of Environmental Management**, v. 50, n. 4, p. 417–428, 1997.
- KOHN, R. A.; KALSCHUR, K. F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of Models to Estimate Urinary Nitrogen and Expected Milk Urea Nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 227–233, 3 abr. 2002.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1. ed. Santa Maria: Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciencia-Editora UFSM, 2002.
- LARSON, S. F.; BUTLER, W. R.; CURRIE, W. B. Reduced Fertility Associated with Low Progesterone Postbreeding and Increased Milk Urea Nitrogen in Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1288–1295, 12 abr. 1997.
- LEWIS, D. Blood-urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant. **The Journal of Agricultural Science**, v. 48, n. 4, p. 438–446, 1957.
- LICATA, E. Subclinical mastitis and urea determination in cows' milk. **Obiettivi e Doc-Vet**, v. 6, n. 12, p. 65–67, 1985.
- LINDBERG, J. E.; JACOBSSON, K.-G. Nitrogen and purine metabolism at varying energy and protein supplies in sheep sustained on intragastric infusion. **British Journal of Nutrition**, v. 64, n. 02, p. 359, 17 set. 1990.
- LOPEZ, E. C.; ORDÓÑEZ, M. G. D. Factors affecting the ruminal microbial composition and methods to determine microbial protein yield. **Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias INIFAP-CENID Parasitología Veterinaria**, 2019.
- LÓPEZ, J. Uréia em rações para produção de leite. **Ureia para ruminantes**, v. 194, p. 171–194, 1984.
- LUCCI, C. S. et al. Concentrações de nitrogênio na dieta, no sangue e no leite de vacas lactantes no período pós-parto. **R. Bras. Zootec.**, v. 35, n. 1, p. 258–263, 2006.

- MACLEOD, G. K. et al. Effect of Varying Protein and Energy Densities in Complete Rations Fed to Cows in First Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 7, p. 1421–1429, 22 abr. 1984.
- MEYER, D. Dairying and the Environment. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1419–1427, 7 abr. 2000.
- MEYER, P. M. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3 SUPPL., p. 1114–1121, 2006.
- MIETTINEN, P. V. A.; JUVONEN, R. O. Diurnal Variations of Serum and Milk Urea Levels in Dairy Cows. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 40, n. 3, p. 289–296, 4 set. 1990.
- MOLLER, S.; MATTHEW AND, C.; WILSONZ, G. F. Pasture protein and soluble carbohydrate levels in spring dairy pasture and associations with cow performance. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 53, 1993.
- MOORE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. **The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)**, 1996.
- MUTSVANGWA, T. et al. Effects of dietary crude protein and rumen-degradable protein concentrations on urea recycling, nitrogen balance, omasal nutrient flow, and milk production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6298–6310, Ago. 2016.
- NELSON, A. J. Practical application of MUN analyses. In: American Association of Bovine Practitioners. Conference (USA), **Anais...**1996.
- NOUROZI, M. et al. Milk urea nitrogen and fertility in dairy farms. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 10, p. 1519–1525, 2010.
- NOUSIAINEN, J.; SHINGFIELD, K. J.; HUHTANEN, P. Evaluation of Milk Urea Nitrogen as a Diagnostic of Protein Feeding. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 2, p. 386–398, Fev. 2004.
- OLTNER, R.; EMANUELSON, M.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 12, n. 1, p. 47–57, 1985.
- OLTNER, R.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 10, n. 5, p. 457–467, 1983.
- PAIVA, V. R. et al. Teores proteicos em dietas para vacas Holandesas leiteiras em confinamento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 65, n.4, p. 1183–1191, 2013.
- PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. [s.l.] Oxford University Press, 1987.
- PEREIRA, D. B. C. et al. Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos. 2. ed. rev. ampl. ed. Juiz de Fora: Epamig, 2001.
- PERES, J. R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. (R. S. GONZÁLEZ, F. H. D.; DURR, J. W.; FONTANELI, Ed.) **In: Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. , Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- PLACE, S. E.; MITLOEHNER, F. M. Invited review: Contemporary environmental issues: A review of the dairy industry's role in climate change and air quality and the potential of mitigation through improved production efficiency. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3407–3416, 23 jul. 2010.

- POWELL, J. M.; ROTZ, C. A.; WATTIAUX, M. A. Potential Use of Milk Urea Nitrogen to Abate Atmospheric Nitrogen Emissions from Wisconsin Dairy Farms. **Journal of Environmental Quality Abstract**, v. 43, n. 4, p. 1169-1175, 9 maio 2014.
- POWELL, J. M.; WATTIAUX, M. A.; BRODERICK, G. A. Short communication: Evaluation of milk urea nitrogen as a management tool to reduce ammonia emissions from dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 9, p. 4690-4694, set. 2011.
- PRICE, W. D. et al. Effect of high levels of urea in purified diets for lambs: growth and metabolism. **Journal of animal science**, v. 35, n. 4, p. 848-853, 1972.
- RAJALA-SCHULTZ, P. J. et al. Association Between Milk Urea Nitrogen and Fertility in Ohio Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 2, p. 482-489, 3 abr. 2001.
- RAJALA-SCHULTZ, P. J.; SAVILLE, W. J. A. Sources of Variation in Milk Urea Nitrogen in Ohio Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 5, p. 1653-1661, 26 mar. 2003.
- ROSELER, D. K. The role and economic impact of milk parameters to monitor intake protein in lactating dairy cattle. **Masters Thesis**, Cornell University, Ithaca, NY. 1990.
- ROSELER, D. K. et al. Dietary Protein Degradability Effects on Plasma and Milk Urea Nitrogen and Milk Nonprotein Nitrogen In Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 525-534, 12 abr. 1993.
- ROY, B. et al. Effect of udder health on milk urea concentration. **Ind. J. Anim. Prod. Manag.**, 3&4, p. 91-93, 2001.
- ROY, B. et al. Evaluation of milk urea concentration as useful indicator for dairy herd management: A review. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, n 1, p. 1-19, 2011.
- ROY, B.; MEHLA, R. K.; SIROHI, S. K. Influence of non-nutritional factors on urea and protein concentration in milk of Murrah buffaloes. **Asian Aust. J. Anim. Sci**, v. 16, n. 9, p. 1285-1290, 2003.
- SANTOS, F. P.; HUBER, J. T. Quality of bypass proteins fed to high-producing cows is important. **Feedstuffs (USA)**, v. 68., p. 12-15, 1996.
- SCHEPERS, A. J.; MEIJER, R. G. M. Evaluation of the Utilization of Dietary Nitrogen by Dairy Cows Based on Urea Concentration in Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 579-584, 17 maio 1998.
- SHAH, A. et al. Degradability of different protein sources and its impact on milk composition. **Pakistan Journal of Agriculture Agricultural Engineering and Veterinary Sciences**. v. 35, n. 1. Jun. 2019.
- SHARMA, S.; JAIN, A.; PANKAJ, P. K. Effect of feeding various levels of protein on milk urea nitrogen (MUN) concentration as a management pointer in lactating riverine buffaloes (*Bubalus Bubalis*). **Buffalo Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 44-50, mar. 2009.
- SILVA, R. M. N. da et al. Uréia para Vacas em Lactação. 1. Consumo, Digestibilidade, Produção e Composição do Leite. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 30, n. 5, p. 1639-1649, 2001.
- SIMILI, F. F.; LIMA, M. L. P. Como os alimentos podem afetar a composição do leite das vacas.. **Pesquisa & Tecnologia - Apta Regional**, v. 4, n. 1, 2007.
- SOARES, P. C. et al. Diagnóstico de carência energética em bovinos por testes de metabolismo ruminal. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 1, p. 33-41, 21 set. 2006.

- SPEK, J. W.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A. Influence of milk urea concentration on fractional urea disappearance rate from milk to blood plasma in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 3880–3888, 2016.
- ST-PIERRE, N. R.; THRAENTY, C. S. Animal Grouping Strategies, Sources of Variation, and Economic Factors Affecting Nutrient Balance on Dairy Farms. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 2, p. 72–83, 1999.
- STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; CLARK, J. H. Relationship Between Ovarian Activity and Energy Status During the Early Postpartum Period of High Producing Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 4, p. 938–947, 10 abr. 1990.
- STOOP, W. M.; BOVENHUIS, H.; VAN ARENDONK, J. A. M. Genetic Parameters for Milk Urea Nitrogen in Relation to Milk Production Traits. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 4, p. 1981–1986, abr. 2007.
- SWENSON, M.; REECE, W. **Dukes' physiology of domestic animals**. 11. ed. [s.l.] Ithaca: Cornell University Press, 1993.
- VAN DUINKERKEN, G. et al. Effect of Rumen-Degradable Protein Balance and Forage Type on Bulk Milk Urea Concentration and Emission of Ammonia from Dairy Cow Houses. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 3, p. 1099–1112, 19 mar. 2005.
- VAN HORN, H. H. et al. Components of Dairy Manure Management Systems. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2008–2030, 31 maio 1994.
- VAZ PORTUGAL, A. The rumen and the ruminant. In: Proc. II Congresso Mundial de Alimentación Animal. Madrid, Espanha, **Anais...**1972.
- WILSON, G. et al. Evaluation of Factors Responsible for Reduced Voluntary Intake of Urea Diets for Ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 41, n. 5, p. 1431, 8 ago. 1975.
- WOLTER, R. **Alimentation de la vache laitière**. [s.l.] France Agricole Editions, 1997.

3. PERCEPÇÃO DOS PRODUTORES A RESPEITO DA ANÁLISE DE NITROGÊNIO UREICO NO LEITE

PRODUCERS' PERCEPTIONS OF MILK UREA NITROGEN (MUN) ANALYSIS

RESUMO

A análise de nitrogênio ureico no leite (NUL) vem sendo proposta para o monitoramento da nutrição proteica de vacas em lactação. Este estudo foi conduzido através da aplicação de um questionário, a fim de observar a percepção dos produtores sobre pontos importantes da utilização da análise de NUL. Para essa finalidade, os fatores que influenciam na utilização ou não da análise foram determinados, além de apresentar quais fatores e percepções explicam melhor a variação dos valores de NUL. Composto por 65 perguntas, o questionário foi disponibilizado via plataforma digital entre os dias 27 de agosto a 25 de setembro de 2018. O estudo totalizou 63 respondentes principalmente da região Sudeste do Brasil. Para verificar a existência de associação entre as variáveis categóricas, os dados foram submetidos ao teste de Qui-quadrado. Para as variáveis relativas às questões mensuradas em escala de Likert e quantitativas utilizou-se o teste não paramétrico de soma de postos de Wilcoxon. Um modelo linear geral foi conduzido para entender quais fatores e percepções dos respondentes mais explicam a variação dos valores de NUL. Os fatores que tiveram associação entre a utilização ou não da análise de NUL foram, o nível de escolaridade dos produtores e o sistema de produção adotado nas fazendas. No modelo linear geral os fatores que resultaram em melhor ajuste foram: Sistema confinado (15.13) apresentou maior valor de NUL em comparação com o sistema semi-confinado (13.47), sendo que os dois não diferiram do sistema a pasto (13.71) ($p=0.0107$). Respondentes que não recebem pagamento pela qualidade do leite (14.93) apresentaram maior valor de NUL em comparação aos que recebem (13.27) ($p=0.0121$). Respondentes que utilizam ureia na dieta (13.40) apresentaram menor valor de NUL em comparação aos que não utilizam (14.80) ($p=0.0082$). Respondentes que coletam o leite para análise sempre no mesmo horário apresentaram menor valor de NUL (12.75) em comparação aos que coletam em horários indefinidos (15.44) ($p=0.0040$). Foi observado que o valor de NUL reduz em 0.79 mg/dL para cada aumento de 1 no escore da percepção de importância da análise conjunta entre o teor de proteína do leite e o teor de NUL e o aumento de 0.63 para cada aumento de 1 no escore da percepção de importância, para aqueles que consideraram importante analisar o teor de NUL em conjunto com status reprodutivo do animal. Os respondentes que não utilizam a análise de NUL, 44% declaram que não sabem para que serve a análise e 78% declararam não saber interpretar o teste. Porém, todos apresentaram interesse em realizar a análise se esta trouxesse melhoria aos resultados da propriedade. Os resultados deste questionário apontam que fatores além dos nutricionais devam ser avaliados e comparados entre si para correta interpretação dos resultados da análise de NUL. Além disso, mais estudos devem ser realizados para determinar valores de referência para análise no Brasil, afim de desenvolver recomendações mais específicas aos produtores.

Palavras-chave: Vacas leiteiras; Nitrogênio ureico; NUL; Nutrição; Produção de leite

ABSTRACT

The analysis of milk urea nitrogen (MUN) has been proposed for monitoring the protein nutrition of lactating cows. This study was conducted through the application of a questionnaire, in order to observe the producers' perception about important aspects of

the use of the MUN analysis. For this purpose, the factors that influence the use or not of the analysis were determined, besides presenting which factors and perceptions better explain the variation of MUN values. Consisting of 65 questions, the questionnaire was made available via digital platform from August 27 to September 25 2018. The study totaled 63 respondents mainly from the Southeastern region of Brazil. To verify the existence of an association between categorical variables, the data was submitted to the chi-squared test. For the variables related to the questions measured on the Likert scale and the quantitative ones, the nonparametric Wilcoxon rank sum test was used. A general linear model was conducted to understand which factors and perceptions better explain the variation in MUN values. The factors associated between the use or not of the MUN analysis were the educational level of the producers and the production system adopted in the farms. In the general linear model, the factors that resulted in better adjustment were: confined system (15.13) presented higher MUN value compared to semi-confined system (13.47), and the two did not differ from pasture system (13.71) ($p = 0.0107$). Respondents who do not receive payment by milk quality (14.93) had a higher MUN value compared to those who receive (13.27) ($p = 0.0121$). Respondents who use urea in the diet (13.40) had a lower MUN value compared to those who do not use (14.80) ($p = 0.0082$). Respondents who collect milk for analysis at the same time always had a lower MUN value (12.75) compared to those who collect at an indefinite time (15.44) ($p = 0.0040$). It was observed that the MUN value decreases by 0.79 mg/dL for each increase of 1 in the score of importance perception of the joint analysis between the milk protein content and the MUN content, and an increase of 0.63 for each increase of 1 in the score of importance perception for those who considered important analyzing the MUN content with the reproductive status of the animal. Of all respondents who do not use the NUL analysis, 44% said they do not know what the analysis is for and 78% say they do not know how to interpret the test. However, all showed interest in performing the analysis if it brought improvement to the property results. The results of this questionnaire indicate that factors other than nutritional ones should be evaluated and compared to each other for correct interpretation of the results of the NUL analysis. In addition, further studies should be conducted to determine benchmarks for analysis, in Brazil in order to develop more specific recommendations to producers.

Keywords: Urea nitrogen in milk nutrition; Milk production; Dairy cows

3.1. Introdução

Nos sistemas de produção de bovinos leiteiros, a alimentação é apontada como responsável pela maior parte dos custos (de 60 a 70%). Portanto, é fundamental a formulação de dietas adequadas para suprir a necessidade dos animais, explorando ao máximo sua capacidade digestiva (SILVA et al., 2001). Sabe-se que a proteína é a fração de maior custo das dietas para bovinos leiteiros. Assim, deve-se adicioná-la às dietas de modo a suprir a exigência das vacas nas diferentes fases da lactação. A concentração adequada de proteína favorece a produção e reduz os custos das dietas.

No Brasil, a produção de leite é uma atividade cada vez mais competitiva. Portanto, buscar alternativas para diminuir custos e aumentar a produtividade é primordial. Segundo Coldebella et al. (2004), é importante quantificar e qualificar os fatores que podem influenciar a produção, buscando ganhos efetivos na quantidade e qualidade do leite nacional.

Para identificação de desbalanceamentos da dieta, fatores como queda na produtividade, problemas reprodutivos, inquietação dos animais, problemas metabólicos (acidose, laminites, timpanismo), escurecimento das fezes, baixo consumo, mudanças no escore de condição corporal (ECC) e na composição do leite são frequentemente utilizados (CORASSIN et al., 2004). Dentre esses indicadores, o nitrogênio

ureico no leite (NUL) vem sendo apontado como uma ferramenta bastante confiável para a avaliação das dietas (DOSKA et al., 2012).

Existe grande interesse no uso do NUL para determinar o que realmente foi consumido e metabolizado pelo animal (CORASSIN et al., 2004), sendo a análise proposta para monitoramento da nutrição proteica de vacas em lactação (LEWIS, 1957; HOF et al., 1997; JONKER et al., 1999; KOHN, 2000; GODDEN et al., 2001b; JONKER et al., 2002; ROY et al., 2003; ROY et al., 2011; DOSKA et al., 2012). O monitoramento do NUL permite verificar eventuais disfunções digestivas e/ou metabólicas, bem como determinar a eficiência nutricional do rebanho leiteiro, especialmente quanto ao balanço de proteína/energia da dieta, uma vez que apresenta boa correlação com a concentração de nitrogênio ureico no plasma (NUP) ou de nitrogênio ureico no sangue (NUS) (MEYER et al., 2006).

Segundo Roseler et al. (1993), a análise de NUL representa um meio rápido, não invasivo e econômico para monitorar o metabolismo proteico em vacas lactantes, uma vez que as amostras são coletadas durante as ordenhas.

A alta do NUL pode resultar de vários fatores nutricionais: excesso de proteína, energia inadequada ou excesso de proteína degradável no rúmen (PDR). Contudo, para correta interpretação dos dados de NUL, é importante considerar, além dos fatores da dieta, fatores não nutricionais como: produção de leite (OLTNER et al., 1985; JOHNSON; YOUNG, 2003; MEYER et al., 2006), número de lactações (JONKER et al., 1998; ARUNVIPAS et al., 2003), estágio da lactação (CARLSSON et al., 1995), raça e peso vivo do animal (DOSKA et al., 2012), contagem de células somáticas (CCS) (ARUNVIPAS et al., 2002), concentração de gordura do leite (JONKER et al., 1998; GODDEN et al., 2001a; GODDEN et al., 2001b); concentração de proteína do leite (JONKER et al., 1999; JOHNSON; YOUNG, 2003; ROY et al., 2011), além do sistema de produção utilizado nas propriedades (KAUFMANN, 1982; DOSKA et al., 2012), estação do ano (CARLSSON et al., 1995; GODDEN et al., 2001a; DOSKA et al., 2012) e o momento da amostragem (VAN DUINKERKEN et al., 2005).

Este estudo foi realizado através da aplicação de um questionário, a fim de observar a percepção dos produtores sobre pontos importantes da utilização da análise de NUL. Para tal, foram eleitos fatores que possam afetar a tomada de decisão para utilização ou não da análise, além de apresentar quais fatores e percepções mais explicam a variação dos valores de NUL.

3.2. Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido através de um questionário (Apêndice A) enviado aos produtores que solicitaram análises de composição de leite no ano de 2017 à Clínica do Leite, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), localizada em Piracicaba, São Paulo. O questionário foi elaborado na plataforma Google Docs e encaminhado via e-mail aos produtores, não sendo oferecido nenhum incentivo ou benefício a eles.

Para assegurar a integridade dos respondentes e desenvolver a pesquisa dentro de padrões éticos, o estudo passou por apreciação da Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) na ESALQ/USP – (CAAE): 85748218.0.0000.5395. Um questionário-piloto foi aplicado a 21 produtores (não incluídos na amostra do presente estudo) para validação e adequação das questões.

Da população de 1.610 produtores, 689 visualizaram o convite (Apêndice B) e 85 concordaram em participar do estudo através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Por não ser o objetivo de estudo, 22 respondentes que declararam ser consultores ou técnicos foram excluídos, totalizando 63 respondentes estudados.

O questionário foi disponibilizado aos produtores no período de 27 de agosto de 2018 a 25 de setembro de 2018.

3.2.1. Questionário

O questionário, composto por 65 questões (Q), possuía 18 questões de múltipla escolha, nove questões dicotômicas (sim/não), seis questões abertas e 32 questões em escala de Likert, dividida em três partes. A primeira parte foi composta pelos tópicos: caracterização do respondente (Q2 e Q3), caracterização da fazenda (Q4 a Q10), práticas relacionadas à nutrição (Q11 a Q31), percepção sobre a análise de NUL (Q32 a Q34) e formas de apresentação dos resultados da análise (Q65). Estes foram respondidos por toda a população do estudo. Na segunda parte, foi avaliada a percepção dos respondentes que utilizam a análise de NUL (Q35 a Q55). Na terceira parte, foi avaliada a percepção de quem não utiliza a análise de NUL (Q56 a Q64).

As questões estruturadas em escala de Likert permitiam ao respondente indicar seu posicionamento frente a uma afirmação. Dentre elas, 23 possuíam escalas de um a cinco com descritores (ex.: 1 – pouco importante; 5 – muito importante). Nove perguntas foram projetadas utilizando a escala em palavras com cinco níveis de respostas, que iam do “concordo plenamente” ao “discordo plenamente”. Em todas as questões em escala de Likert, o respondente poderia escolher um ponto de neutralidade (ex.: Não concorda nem discorda) (VIEIRA, 2009).

3.2.2. Análise Estatística

Para a realização da análise estatística, algumas questões tiveram suas respostas agrupadas devido às poucas observações. Dentre elas, a Q7, “Qual a raça predominante em seu rebanho?”, onde as raças Gir e Jersey foram agrupadas na categoria “outras”; e a Q41, “Em qual(is) ordenha(s) você coleta amostra de leite para realização da análise de NUL?”, no qual apenas um respondente escolheu a opção “noite”, sendo agrupado na categoria “tarde”.

Todas as análises foram realizadas no software SAS 9.4 (2012). A significância estatística foi considerada ao nível de 5% de probabilidade (0.05).

Para verificar a existência de associação entre as variáveis categóricas, os dados foram submetidos ao teste de qui-quadrado, por meio do PROC FREQ. Neste estudo, as variáveis consideradas foram a utilização ou não da análise de NUL e a resposta assinalada para as questões categóricas (Q2, 3, 4, 5, 6, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 20 e 21). Quando mais de 20% das células apresentavam contagem menor que cinco respostas (pressuposição da análise de Qui-quadrado), o teste exato de Fisher (EXACT FISHER) era aplicado.

Quando o teste de qui-quadrado apresentava significância estatística, os resíduos ajustados padronizados para cada célula eram utilizados para estudar as diferenças entre proporções, sendo que valores fora do intervalo de -1.96 a 1.96 são significativos, considerando o nível de 5% de probabilidade (MEYERS et al., 2013). Os resíduos padronizados foram obtidos por meio do comando STDRES.

Para as variáveis relativas às questões mensuradas em escala Likert (Q22 à Q33) e quantitativas (ex.: relação volumoso/concentrado, número de vacas lactantes e produção mensal de leite), utilizou-se o teste não paramétrico de soma de postos (comando PROC NPAR1WAY) de Wilcoxon. Tais variáveis foram apresentadas com as medianas e o intervalo interquartis para respondentes que usavam ou não análise de NUL.

Aos respondentes que disseram que utilizavam a análise de NUL e informaram o valor de NUL da análise mais recente, foi conduzido um modelo linear geral (comando PROC MIXED) para entender quais fatores e percepções dos respondentes mais explicam a variação dos valores de NUL. A normalidade dos resíduos dos modelos foi testada por meio de histogramas e do teste de Shapiro-Wilk. O ajuste dos modelos foi verificado por meio das estatísticas de Critério de Informação Bayesiano e de Akaike e Bayesiano (BIC e AIC, respectivamente) (WOLFINGER, 1993). Após processos de entrada e exclusões de variáveis no modelo, o modelo final foi obtido a partir do modelo inicial:

$$y_{ij} = \mu + B_{ij}(X) + \varepsilon_{ij}$$

onde,

y_{ij} = nitrogênio ureico no leite considerando a i -ésima variável explicatória para o j -ésimo respondente;

μ = constante comum a todas as observações;

$B_{ij}(X)$ = efeito (coeficiente) da i -ésima variável explicatória do j -ésimo respondente, com $i=22$ (Q5 Q7 Q8 Q9 Q10 Q11 Q12 Q13 Q14 Q19 Q38 Q40 Q41 Q47 Q48 Q49 Q50 Q51 Q52 Q53 Q54 Q55) e $j=54$;

ε_{ij} = erro aleatório associado à observação y_{ij} .

O modelo final ficou composto das variáveis Q5, Q10, Q13, Q14, Q40, Q47 e Q52, que compreendiam o sistema de criação, o recebimento ou não pela qualidade do leite produzido, o uso ou não de ureia na dieta, a relação volumoso/concentrado da dieta, as práticas relacionadas à coleta da amostra (horário de coleta), a importância da utilização do teor de proteína junto ao NUL e o status reprodutivo do animal. Quando uma variável preditora categórica foi significativa, comparações de médias foram realizadas utilizando o teste ajustado de Tukey-Kramer. A normalidade dos resíduos foi verificada por meio do comando PROC UNIVARIATE.

Com essa estrutura, o questionário buscou traçar o perfil dos produtores, ver a sua percepção sobre a análise de NUL, além de determinar os fatores que influenciam ou não a utilização da análise em suas propriedades. Para os produtores que já utilizam a análise, buscou-se relacionar quais fatores e percepções explicam a variação dos valores de NUL, bem como a maneira com que este utiliza os resultados da análise. Para finalizar, buscou-se entender os motivos de alguns produtores não a utilizarem.

3.3. Resultados

3.3.1. Caracterização dos respondentes

Dos 63 respondentes, 42 eram proprietários das fazendas (67%), 14 eram gerentes (22%), três eram supervisores (5%), um era operador (2%) e três eram “outros” (pesquisadores e alunos) (5%) (Figura 1).

Dentre os respondentes, 81% declararam estar cursando ou possuir ensino superior; 3%, ensino superior incompleto; 29%, ensino superior completo; 8%, pós-graduação incompleta; e 41%, pós-graduação completa. 14% declararam possuir ensino médio completo; 3%, ensino médio incompleto; e apenas 2%, ensino básico incompleto. Essa porcentagem demonstra um alto nível de escolaridade dos respondentes (Figura 1).

Figura 1- Cargo e escolaridade dos respondentes

Ao testar a associação entre o uso da análise de NUL e o nível de escolaridade dos respondentes (Tabela 1), observamos que existe relação entre a utilização de NUL e a escolaridade ($p = 0.0047$). Frequências maiores que as esperadas foram encontradas para ensino básico incompleto e não utilização de análise de NUL e ensino superior completo e utilização de NUL. Espera-se que, quanto maior o nível de escolaridade do produtor, maior a facilidade de compreensão e assimilação de novas tecnologias e, consequentemente, maior a probabilidade de adoção do uso da análise NUL nas propriedades.

Tabela 1. Associação entre uso da análise de NUL e escolaridade

Escolaridade	Análise de NUL		Valor-p
	Não Usa	Usa	
Ensino básico incompleto	1 (100.0)*	0 (0.0)*	0.0047
Ensino médio completo	3 (33.3)	6 (66.7)	
Ensino médio incompleto	0 (0.0)	2 (100.0)	
Ensino superior completo	0 (0.0)*	18 (100.0)*	
Ensino superior incompleto	1 (50.0)	1 (50.0)	
Pós-graduação completa	2 (7.7)	24 (92.3)	
Pós-graduação incompleta	2 (40.0)	3 (60.0)	

Quando testamos a associação entre o uso da análise de NUL e o cargo do respondente na fazenda, observamos que não existe uma relação entre a utilização ou não da análise de NUL e o cargo ($p = 0.1563$).

3.3.2. Caracterização das fazendas

O estudo foi realizado em 63 propriedades em todo país, com destaque para os Estados de Minas Gerais e São Paulo, que representaram 46% e 32% da amostra, respectivamente. Outros estados representaram 22% da amostra: Paraná (8%), Rio de Janeiro e Goiás (5% cada), Alagoas, Sergipe e Piauí (2% cada). Ao analisar a associação entre a região das fazendas e o uso ou não da análise de NUL, não foi encontrada relação entre a utilização do NUL e a região ($p = 0.0522$) (Figura 2).

Figura 2 - Localização das propriedades

As fazendas apresentaram média de 111 vacas em lactação (mínimo 10, máximo 1.560 animais), com produção média de 3.180 litros de leite por dia (mínimo 150 L/dia, máximo 60.000 L/dia). Das fazendas, 81% participam de algum programa de valorização pela qualidade do leite produzido, porém não foi encontrada associação entre o uso ou não da análise de NUL e o recebimento por qualidade do leite produzido ($p = 1.0000$).

A maioria das fazendas analisadas apresentaram sistemas de produção confinado e semiconfinado; 44% e 43% da amostra, respectivamente. Apenas 13% das propriedades declararam criar os animais sob pastejo (Figura 3). Os respondentes que declararam utilizar algum tipo de confinamento

dispõem principalmente dos tipos *Free Stall* e *Compost Barn*, cada um com 39% das observações. Existe relação entre a utilização de NUL e o sistema de produção ($p = 0,0290$). Maiores frequências de utilização da análise de NUL foram encontradas em sistemas a pasto e sistemas confinados. Ambos estão associados à maior utilização de NUL. Porém, não existe uma relação entre utilização de NUL e tipo de confinamento ($p = 0.2143$) (Tabela 2).

Figura 3 - Sistema de produção

Tabela 2. Associação entre uso da análise de NUL em sistema de produção e tipo de confinamento

	Análise de NUL		Valor-p
	Não Usa	Usa	
Sistema de criação			
Confinado	1 (3.6)*	27 (96.4)*	0.0290
Pastejo	3 (37.5)*	5 (62.5)*	
Semiconfinado	5 (18.5)	22 (81.5)	
Tipo de confinamento			
Compost-barn	0(0.0)	11 (100.0)	0.2143
Free-stall	0(0.0)	11 (100.0)	
Outros*	1 (16.7)	5 (83.3)	

* Pista de trato, cocho.

A raça predominante no estudo foi a Holandesa, com 49% das observações. Vacas mestiças (derivadas do cruzamento entre raças) apresentaram 44% das respostas. Outras, como Jersey e Gir, somaram 7%. Ao testar a associação entre o uso da análise de NUL e a raça dos animais, não foi observada relação ($p = 1.0000$).

3.3.3. Práticas relacionadas à nutrição

Quando questionados se as vacas em lactação eram divididas em lotes, 86% declararam que sim. Destes, 96% ofertam dietas diferenciadas para os lotes. Para 85%, o nível de produção de leite dos

animais é determinante para a formação dos lotes. 7% utilizam a CCS, idade e estágio de lactação; foram apontados por 8% dos respondentes (4% cada). Fatores como estágio reprodutivo e escore de condição corporal (ECC) não foram citados (Figura 4). Não foi encontrada associação entre o uso da análise de NUL e a divisão dos animais em lotes nem o fornecimento de dietas diferenciadas e os critérios utilizados para formação dos lotes ($p = 0.6043$, $p = 1.0000$ e $p = 0.4862$, respectivamente).

Figura 4 - Divisão em lotes e fatores que determinam a divisão dos lotes

A alimentação do rebanho representa de 40 a 60% do custo total de produção para 63% dos respondentes; para 16%, entre 61 a 80%; para 13%, de 20 a 39%; 6% o não souberam responder; e 2% declararam ter um custo acima de 81% com a alimentação dos seus animais. Sobre a afirmação “Na formulação da dieta do rebanho, a proteína é o nutriente mais barato”, 62% discordaram (37%, plenamente; 25%, parcialmente), 22% concordaram (5%, plenamente; 17%, parcialmente) e 16% dos respondentes não concordaram nem discordaram.

Quando os produtores foram questionados como o alimento concentrado era ofertado aos animais nos meses de abril a setembro (período de seca) e outubro a fevereiro (período das águas), não ocorreu distinção entre as respostas do período de seca e águas: 78% declararam ser misturado ao alimento volumoso (ração em mistura total –TMR); 17% fornecem o concentrado separado do volumoso; e 5% disseram fornecer tanto alimento misturado ao volumoso quanto separado (outros). Na pergunta “Em qual momento é ofertado o concentrado?” (Q17 e 23): 48% responderam “após a ordenha”; 25% ofertam o alimento concentrado à vontade, ou seja, sem horário determinado; 19%, "durante a ordenha; e 7% disseram oferecer o concentrado durante a ordenha e também misturado ao volumoso (outros) (Figura 5). Ao analisarmos a associação entre o uso da análise de NUL e a oferta do concentrado (modo e momento), observamos $p = 0.8543$ e $p = 0.1817$, respectivamente. Não foi encontrada relação entre as categorias.

Figura 5 - Forma e momento de oferta do alimento concentrado

Dentre os produtores que responderam ao questionário, 62% disseram ofertar ureia aos animais como suplemento da dieta, porém não foi encontrada relação entre o uso da análise e o uso de ureia ($p = 0.2831$).

Os respondentes classificaram o quanto consideram importantes alguns fatores para a identificação no desbalanceamento da dieta (Tabela 3). É possível destacar que todos os fatores tiveram importância para a maioria dos respondentes.

Tabela 3. Porcentagem de respondentes que avaliaram a importância dos fatores abaixo na identificação de um possível desbalanceamento na dieta do rebanho

Fatores avaliados	Pouco importante*	Razoavelmente importante**	Importante***
Queda na produção	4%	10%	88%
Problemas reprodutivos	7%	17%	76%
Aparência das fezes	5%	21%	74%
Problemas metabólicos	4%	13%	84%
Gordura do leite abaixo de 3,2%	2%	11%	88%
Proteína do leite abaixo de 3%	2%	13%	86%
Baixo consumo da dieta	9%	14%	79%
Mudança no ECC	5%	13%	82%

*Respondentes que selecionaram os números 1 ou 2 na escala de Likert.

**Respondentes que selecionaram o número 3 na escala de Likert.

***Respondentes que selecionaram os números 4 ou 5 na escala de Likert.

Ao avaliar se existiriam diferenças nas respostas dadas entre os respondentes que utilizam ou não a análise de NUL nas questões mensuradas em escala de Likert (Q29 a Q40) e nas quantitativas, como o número de vacas em lactação, o volume de leite produzido diariamente, a relação volumoso/concentrado (% na matéria seca) da dieta (Q8, 9, 14 e 18, respectivamente), não foram encontradas diferenças (Tabela 4).

Tabela 4. Comparações (mediana e intervalo interquartis), pelo método de soma de postos de Wilcoxon, entre as respostas dos respondentes que utilizavam ou não a análise de NUL.

Questões/Variáveis	Análise de NUL				P-valor
	N	Não Usa	N	Usa	
- Número de vacas em lactação (Q8)	9	40 (100)	54	64.5 (60)	0.5909
- Volume de leite diário (Q9)	9	780 (3550)	54	1455 (1820)	0.7175
-Relação volumoso/concentrado da dieta – período seca (Q14)	5	3.2 (1)	51	2.3 (1.5)	0.1503
-Relação volumoso/concentrado da dieta – período águas (Q18)	6	3.1 (1)	50	2.3 (1.5)	0.1213
- Custo total de produção (Q22)	8	50 (0)	51	50 (0)	0.7386
- Custo da proteína na alimentação (Q23)	9	4 (1)	54	4 (2)	0.9110
- Queda na produção de leite (Q24)	9	5 (0)	54	5 (1)	0.1257
- Problemas reprodutivos (Q25)	9	5 (1)	54	4 (1)	0.6803
- Aparência das fezes (Q26)	9	4 (2)	54	4 (1)	0.2444
- Problemas metabólicos (Q27)	9	5 (1)	54	5 (1)	0.8461
- Gordura do leite abaixo de 3,2% (Q28)	9	4 (1)	54	4.5 (1)	0.4402
-Proteína do leite abaixo de 3,0% (Q29)	9	4 (1)	54	4 (1)	0.7731
- Baixo consumo da dieta (Q30)	9	5 (1)	54	4 (1)	0.8653
- Mudanças no ECC* (Q31)	9	5 (1)	54	4 (1)	0.5094
-Dieta formulada é a mesma consumida (Q32)	9	2 (3)	54	2 (3)	0.9261
- Análise de NUL para monitoramento da nutrição (Q33)	9	2 (1)	54	1 (1)	0.2871

*Escore de Condição Corporal.

3.3.4. Percepção sobre a análise de nitrogênio ureico no leite (NUL)

Em relação à afirmação “A partir da análise de NUL, pode-se monitorar a nutrição de vacas em lactação oferecendo a elas uma dieta mais balanceada, permitindo assim que expressem seu potencial de produção”, 92% dos respondentes concordam com a afirmação; 86% afirmaram realizar a análise em suas fazendas (Figura 6).

Figura 6 -Porcentagem de respondentes que declararam utilizar ou não a análise de NUL

3.3.5. Percepção de quem utiliza a análise de nitrogênio ureico no leite (NUL)

Dentre os produtores, 86% dos respondentes declararam utilizar a análise de nitrogênio ureico em suas fazendas, com média de 13,09 mg/dL (mínima de 6 mg/dL e máxima de 31 mg/dL) na última análise realizada. 56% realizam, mensalmente, análise de NUL; 17%, quinzenalmente; 11%, trimestralmente; 2%, apenas quando alteram a dieta do rebanho; e 15% utilizam em outros períodos (semanalmente e semestralmente).

Na pergunta: “Você realiza análise de NUL a partir de amostra individual (de cada vaca) ou do tanque de resfriamento?” (Q38), 69% dos respondentes declararam utilizar amostra do tanque para realização da análise. Quanto ao horário de coleta, 44% afirmaram realizar na ordenha da manhã; 17%, na ordenha da tarde; e 39% afirmaram que a amostra é composta por todas as ordenhas do dia. Além disso, 83% disseram fazer a coleta da amostra sempre no mesmo horário (Figura 7).

Figura 7 - Frequência de realização do NUL, tipo e horário de coleta da amostra

Quanto à importância da análise, 95% das fazendas que já realizam o teste a consideram importante para o monitoramento tanto proteico quanto energético da dieta. Para 91% dos respondentes, valores de 10 a 14 mg/dL de NUL são adequados para os rebanhos brasileiros; 6% não concordaram nem

discordaram e 4% discordaram parcialmente. Quando questionados sobre a afirmação de que o resultado da análise é de fácil interpretação, 83% concordaram (46%, parcialmente; 37%, plenamente), 7% não concordaram nem discordaram e 9% discordaram parcialmente.

Para facilitar a interpretação da análise, foram apresentados aos respondentes dois gráficos, sendo que o da Figura A já era utilizado pelos clientes da Clínica do Leite e o da Figura B foi desenvolvido para este estudo (Figura 8). Estes foram apresentados aos respondentes, que escolheram o modelo que melhor se adequa a suas fazendas. 59% dos respondentes escolheram a Figura A.

Figura 8- Gráficos: Diagnóstico nutricional e relação proteína x nitrogênio ureico no leite (NUL)

Na afirmação “O custo financeiro da análise de NUL é baixo em relação à importância de seu resultado como indicador do ‘status’ nutricional de vacas em lactação”, apenas 2% discordaram parcialmente, 87% concordaram e 11% não concordaram nem discordaram.

Para 88% dos respondentes, ao avaliar os resultados da análise de NUL, deve-se considerar outros fatores, além dos nutricionais (Tabela 5).

Tabela 5. Porcentagem de respondentes que avaliaram a importância dos fatores abaixo junto à análise de NUL para interpretação de seus resultados

Fatores avaliados	Pouco importante*	Razoavelmente importante**	Importante***
Teor de proteína do leite	6	13	81
Teor de gordura do leite	4	17	80
Raça do animal	8	24	69
Número de lactações	13	33	54
Produção de leite	4	13	83
Status reprodutivo	15	19	66
Peso vivo do animal	14	30	55
Sazonalidade climática	13	28	60
Dias em lactação - DEL	9	24	67

* Respondentes que selecionaram os números 1 ou 2 na escala de Likert.

** Respondentes que selecionaram o número 3 na escala de Likert.

*** Respondentes que selecionaram os números 4 ou 5 na escala de Likert.

Aos respondentes que informaram o valor da última análise de NUL realizada em sua fazenda, um modelo linear geral foi conduzido a fim de entender quais fatores e percepções podem explicar a variação dos valores de NUL. Os fatores que resultaram em melhor ajuste do modelo final estão na tabela 6. A relação volumoso/concentrado foi o único fator não significativo ($p = 0.1247$). Sistema confinado (15.13) apresentou maior valor de NUL em comparação ao sistema semiconfinado (13.47); os dois não diferiram do sistema a pasto (13.71) ($p = 0.0107$). Respondentes que não recebem pagamento pela qualidade do leite (14.93) apresentaram maior valor de NUL em comparação aos que recebem (13.27) ($p = 0.0121$). Respondentes que utilizam ureia na dieta (13.40) apresentaram menor valor de NUL em comparação aos que não utilizam (14.80) ($p = 0.0082$). Respondentes que coletam o leite para análise sempre no mesmo horário apresentaram menor valor de NUL (12.75) em comparação aos que coletam em horários indefinidos (15.44) ($p = 0.0040$). Para marcar na escala de Likert, “Quão importante você considera analisar conjuntamente o teor de proteína do leite e o teor de NUL, para modificar a dieta do rebanho”, foi observado que o valor de NUL reduz em 0,79 mg/dL para cada aumento de 1 no escore da percepção de importância. Respondentes que consideravam a análise muito importante (5 na escala) apresentaram valores de NUL 3,95 mg/dL menores que aqueles que consideraram pouco importante (1 na escala). Para aqueles que disseram achar muito importante não analisar o teor de NUL isoladamente, e sim em conjunto com status reprodutivo do animal, foi observado um aumento de 0,63 mg/dL para cada aumento de 1 no escore da percepção de importância.

Tabela 6. Coeficientes e médias ajustadas de valores de NUL e fatores que afetam sua variação para respondentes que utilizavam a análise de NUL

Variável	Coefficiente	Erro Padrão ¹	Média Ajustada*	Erro Padrão ²	Valor-p
Intercepto	12.085	1.6289	-----		
Sistema	-----				0.0107
Confinado	1.675	0.5293	15.13 A	0.634	
Pastagem	0.254	1.2213	13.71 AB	1.051	
Semiconf.	Referência	-	13.45 B	0.498	
Pag. Qualid.	-----				0.0121
Não Recebe	1.655	0.6314	14.93 A	0.660	
Recebe	Referência	-	13.27 B	0.368	
Uso de ureia	-----				0.0082
Não usa	1.401	0.5053	14.80 A	0.541	
Usa	Referência	-	13.40 B	0.454	
Relação V:C	-0.165	0.1054	-----		0.1247
Q47	-----				0.0040
Não	2.694	0.8832	15.44 A	0.707	
Sim	Referência	-	12.75 B	0.513	
Q54	-0.790	0.3015	-----		0.0122
Q59	0.629	0.1973	-----		0.0027

¹ Erro padrão do coeficiente.

² Erro padrão da média ajustada.

* Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa, RMSE (Erro quadrático médio) = 1.68 mg/dL, R² = 42.09%.

3.3.6. Percepção de quem não utiliza a análise de nitrogênio ureico no leite (NUL)

Dos respondentes que declaram não utilizar a análise de NUL, 44% declararam não saber para que serve a análise, 33% foram indiferentes, e 22% sabiam para o que serve. 67% afirmaram que essa análise nunca lhes foi ofertada. 11% já solicitaram a análise alguma vez no passado. Quanto à interpretação, 78% declararam não saber interpretar o teste.

Quando questionados se consideravam a análise cara, 67% eram indiferentes, enquanto 22% consideraram cara e 11% não consideraram. Em relação à afirmação “A mesma amostra coletada para a análise de composição do leite pode ser utilizada para a análise de NUL”, 56% disseram não concordar nem discordar e 44% concordaram plenamente com a afirmação. 56% dos respondentes disseram não saber coletar as amostras para realização da análise.

Dentre os respondentes, 67% apresentaram interesse em realizar a análise, 22% eram indiferentes e apenas 11% disseram não possuir interesse. Quando perguntados se a análise de NUL se mostrava importante para a melhoria dos resultados da fazenda e se eles a utilizariam, 100% dos respondentes disseram que sim.

3.4. Discussão

O objetivo do estudo foi levantar informações através da aplicação de um questionário, observando a percepção dos produtores sobre pontos importantes da utilização da análise NUL nas fazendas e, com isso, direcionar futuras iniciativas para que utilizem, da melhor forma, os valores de NUL como ferramenta para adequação nutricional do seu rebanho.

Crítérios de seleção para a participação deste estudo foram: participação voluntária, direcionamento a clientes da Clínica do Leite e eliminação dos respondentes declarados como consultores. Esses critérios tornaram o estudo numa amostra não aleatória.

O alto nível de escolaridade dos respondentes pode ter influência no resultado da pesquisa, 81% declararam estar cursando ou possuir ensino superior, o que contrasta com perfil do produtor rural do Brasil, onde apenas 2% dos produtores rurais possuem ensino superior completo e aproximadamente 70% possuem, no máximo, o ensino fundamental incompleto (SEBRAE, 2018). Demonstrando o alto nível de escolaridade dos respondentes e direcionando o estudo a uma população específica.

Os produtores com maior nível de escolaridade buscam mais conhecimento e capacitação, procuram se adequar às normas técnicas e implementar novas tecnologias na atividade (Soares et al., 2013). Dos respondentes que declararam possuir ensino superior completo, 100% utilizam a análise de NUL para monitoramento do *status* nutricional do rebanho demonstrando que a escolaridade do produtor vai ao encontro de sua capacidade em buscar informações e melhorar sua atividade (Oliveira et al., 2013). Neste cenário, torna-se importante apresentar o NUL como uma ferramenta acessível ao produtor independente do seu grau de instrução. Como por exemplo, através da implementação de gráficos (Figura 1) e cartilhas que expliquem e facilitem o uso e interpretação da análise.

Mesmo com números significativos, a pecuária de leite tem contrastes acentuados entre as propriedades rurais. A variação da produtividade do rebanho leiteiro brasileiro é muito ampla; na maioria das propriedades, há predominância de baixos índices e, em uma minoria, os valores encontrados são semelhantes aos dos países desenvolvidos e com pecuária tecnificada (BORSANELLI et al., 2014).

Os percentuais de custos com alimentação relatados pela maioria dos respondentes são similares aos descritos por Silva et al. (2001), que atribuem 60% dos custos da criação de ruminantes à alimentação. Sendo a proteína responsável pela maior parte dos custos da dieta (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2005; PAIVA et al., 2013), a utilização da análise de NUL permite ao produtor detectar o desbalanceamento proteico da dieta (COLMENERO; BRODERICK, 2006; LUCCI et al., 2006; ROY et al., 2011; DOSKA et al., 2012) e realizar ajustes que podem proporcionar uma diminuição nos custos da propriedade. Além do incremento no custo da dieta, altos níveis de PB na alimentação dos animais podem causar redução na produção de leite (ARIAS; ALONSO, 1997). Hogan (1974), Edwards et al. (1980), Huber e Kung (1981), Chalupa (1984), Colmenero e Broderick (2006) e Roy et al. (2011) demonstram que aumentos crescentes na concentração dietética de proteína produzem incrementos decrescentes na produção de leite.

A maioria dos respondentes (78%) relatou fornecer o alimento concentrado misturado ao alimento volumoso. Essa prática de manejo pode diminuir a variação do nitrogênio ureico ao longo do dia (FOLMAN et al., 1981; CARROLL et al., 1988; ROSELER et al., 1993).

Parâmetros como queda na produção de leite, problemas reprodutivos, desordens metabólicas, aparência das fezes, baixo consumo da dieta, mudanças no ECC e mudanças na composição do leite, foram apontados pelos respondentes como fatores importantes para a identificação no desbalanceamento na dieta. Entretanto, de maneira simples, rápida, precisa e de baixo custo (CALDEIRA, 2005), a análise de NUL permite determinar o que realmente foi consumido e metabolizado pelo animal, bem como a eficiência nutricional, especialmente quanto ao balanço de proteína/energia da dieta (CORASSIN et al., 2004).

O percentual de produtores que declaram utilizar a análise de NUL neste estudo (86%) foi superior ao encontrado por Danés e Andrade (2017) que ao aplicarem um questionário sobre a utilização do NUL, para produtores/consultores brasileiros observaram que 63% dos respondentes realizavam a análise de NUL. O grande percentual de produtores brasileiros que declararam utilizar a análise como ferramenta para formulação de dietas demonstra a importância de mais estudos nacionais que proporcionem recomendações mais sólidas e baseadas em dados nacionais.

Quando analisado a periodicidade do uso da análise, 56% declararam usar o NUL mensalmente, percentual inferior ao declarado no estudo de Danés e Andrade (2017) (76%).

A análise mensal dos animais, seria o adequado para avaliação da dieta (ROY et al., 2011), pois permite um tempo de adaptação caso ocorra alguma mudança na nutrição dos animais.

O percentual de produtores neste estudo que utilizam amostras coletadas do tanque para a realização da análise de NUL (69%) é semelhante ao encontrado por Danés e Andrade (2017) (68%). Porém, a análise do tanque é o somatório de valores variados de NUL e produção de leite, sendo difícil determinar se um grupo de vacas com níveis altos de NUL não foi diluído por outro grupo de vacas com menores valores (ROY et al., 2011). Apesar do menor custo e facilitação do trabalho no uso de amostras de tanque, o NUL realizado a partir deste mostra o status nutricional do rebanho, sem a capacidade de fornecer informações sobre subgrupos de gado dentro de um rebanho (ARUNVIPAS et al., 2004). Nelson (1996) observou que as amostras de tanques diferem da média de todas as vacas, de 3,0 até 4,5 mg/dL. Portanto, a análise individual, com cálculo posterior de uma média por lote, seria a forma mais indicada para utilizar o NUL como ferramenta para avaliação do *status* nutricional.

O potencial da utilização dos teores de ureia como um indicador da ingestão de proteína e energia dietética de vacas leiteiras foi apontado por grande parte dos respondentes que já realizam a análise em suas propriedades. O que demonstra que o uso do NUL tornou-se um importante recurso para os nutricionistas, com a finalidade de avaliar a eficiência da utilização de proteína em várias dietas como relatado por Hinders (1996).

A faixa de NUL considerada ideal por 91% dos respondentes, de 10 a 14 mg/dL, coincide com a faixa utilizada como referência por Meyer et al. (2006) e Doska et al. (2012) em estudos no sudeste e sul do Brasil, respectivamente. Estes autores se basearam no intervalo descrito na literatura internacional, portanto, essa é uma recomendação genérica e deve ser validada à realidade do país (DANÉS; ANDRADE, 2017).

Nossos resultados indicam um aumento no percentual de rebanhos brasileiros que estão dentro da faixa de 10 a 14 mg/dL, passando de 15% em 2006 (MACHADO; CASSOLI, 2006) para 46% com dados analisados entre os anos 2016 e 2018. Demonstrando uma melhoria no manejo nutricional dos rebanhos brasileiros. Caldeira (2005), relata que níveis de NUL abaixo de 10 mg/dL podem significar

ou uma deficiência de proteína na dieta ou uma alta eficiência no aproveitamento da PDR. Níveis acima de 15 mg/dL podem indicar excesso de PDR ou carência de energia na dieta, absorção excessiva de aminoácidos excedentes às necessidades do animal ou ainda subnutrição grave, gerando catabolismo das reservas corporais.

Para 87% dos respondentes o custo da análise de NUL é baixo em relação ao seu benefício, uma vez que a identificação e correção de deficiências, excessos ou desequilíbrios nas concentrações de proteína e energia da dieta poderia proporcionar a melhoria da saúde, produtividade do animal e diminuir a excreção de nitrogênio ao ambiente (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2005; PAIVA et al., 2013). Hristov et al. (2017), correlacionam o alto custo da dieta em rebanhos nos Estados Unidos a alta do teor de NUL. Portanto, o uso mais eficiente da proteína poderia resultar em menores custos de produção, aumentando a rentabilidade das fazendas (GODDEN et al. 2001a).

O NUL é fundamental para avaliar o *status* nutricional do rebanho, porém, outros fatores além dos nutricionais devem ser considerados para a interpretação dos resultados (JONKER et al., 1998). Entre os respondentes, 88% concordam com essa afirmação. Os fatores mais citados foram à produção, o teor de proteína e gordura do leite, enquanto número de lactações e peso vivo do animal foram considerados menos importantes. O que corrobora com os resultados de Danés e Andrade (2017) dos quais 75% dos entrevistados também utilizam critérios adicionais para interpretação dos resultados da análise de NUL. Isso demonstra que grande parte produtores brasileiros estão interpretando a análise de NUL de forma correta.

Um modelo linear geral foi conduzido a fim de entender quais fatores e percepções podem explicar a variação dos valores de NUL para os respondentes que apresentaram o valor da última análise realizada na propriedade. As variáveis que melhor se ajustaram ao modelo final foram: o sistema de confinamento utilizado pelo produtor, o recebimento ou não pela qualidade do leite, a utilização ou não de ureia na dieta, o horário de coleta para a análise de NUL, a relação volumoso/concentrado, e o grau de importância dado pelo produtor à análise conjunta do NUL com as variáveis teor de proteína no leite e status reprodutivo dos animais. É importante frisar que ao solicitarmos um único valor de NUL (o último), os produtores reportaram apenas as análises realizadas no mês de julho, isso pode ter tendenciado as correlações uma vez que as perguntas relacionadas a dieta e manejo abordavam o ano todo e o NUL uma variável amplamente afetada por fatores nutricionais ao longo do ano.

Quando comparados os sistemas de produção, vacas em pastejo e confinadas podem apresentar diferentes níveis de NUL. Ao contrário do esperado o sistema confinado (15.13) apresentou maior valor de NUL em comparação ao sistema semiconfinado (13.47); os dois não diferiram do sistema a pasto (13.71) ($p = 0.0107$). Kaufmann (1982), Hoffman e Steinhofel (1990), Carlsson e Pehrson (1993), Carlsson et al. (1995), Meyer et al. (2006) e Doska et al. (2012) relatam que vacas em pastejo apresentaram uma concentração de ureia no leite maior do que as mantidas em confinamento. Kaufmann (1982) atribui isso ao excesso de formação de amônia no trato digestivo. O pastejo pode resultar em mudanças na quantidade e/ou disponibilidade de proteína na dieta ou no balanço de energia e proteína (CARLSSON; PEHRSON, 1993; CORREA; CUÉLLAR, 2004). Além disso, mudanças mais regulares na concentração de NUL foram observadas em vacas confinadas, uma vez que os produtores possuem maior controle sob o manejo nutricional, sendo o consumo de alimento mais estável e adequado a suas exigências.

Respondentes que não recebem pagamento pela qualidade do leite (14.93) apresentaram maior valor de NUL em comparação aos que recebem (13.27) ($p = 0.0121$). Embora no Brasil não se remunere o produtor com base no teor de proteína verdadeira no leite, essa prática já vem sendo adotada em outros países em função do melhor rendimento industrial. Portanto, se essa tendência for adotada pelas indústrias brasileiras os produtores terão que se adequar para evitar perdas econômicas (GUSTAFSSON; PALMQUIST, 1993). Ferreira et al. (2006) relatam que o aumento do NUL ocasiona menor rendimento industrial para produção de queijo, uma vez que parte da proteína verdadeira é substituída pela ureia. Gustafsson e Palmquist (1993) observaram que maiores concentrações de NUL resultavam em maior tempo para coagulação do leite, desenvolvimento de fermentações irregulares e diminuição na qualidade.

Respondentes que utilizam ureia na dieta (13.40) apresentaram menor valor de NUL em comparação aos que não utilizam (14.80) ($p = 0.0082$). Animais alimentados com ureia apresentam maior taxa de NUS (PRICE et al., 1972). Segundo Roy et al. (2011), a ureia é rapidamente hidrolisada, aumentando, consideravelmente, a concentração de amônia no rúmen. Wilson et al. (1975) observaram que o aumento da quantidade de ureia, de 1 para 3% na dieta de ruminantes, acarretou em acréscimos nas concentrações de amônia no rúmen e de ureia no sangue e na saliva. Conti et al. (2014), ao estudar dietas contendo farelo de soja ou ureia, demonstraram que o nível de NUL é maior nas dietas com alta PB, independente da fonte de nitrogênio.

Respondentes que coletam o leite para análise sempre no mesmo horário apresentaram menor valor de NUL (12.75) em comparação aos que coletam em horários indefinidos (15.44) ($p = 0.0040$). Neste estudo, a maioria dos respondentes declarou realizar a coleta das amostras para a análise de NUL sempre no mesmo horário; o período da manhã foi o horário mais citado. A concentração de ureia no leite pode ser influenciada pelo tempo da última alimentação, portanto, os valores de NUL são influenciados pelo momento de amostragem para a análise. Devido a essa influência, Miettinen e Junoven (1990) e Carlsson e Bergström (1994) sugerem que, para a análise de NUL, as amostras devem ser coletadas em quantidades similares entre as ordenhas, ou seja, devem ser compostas por todas as ordenhas do dia ou, ainda, que sejam coletadas sempre no mesmo horário, mantendo-se também o horário da alimentação.

Apesar de não ser um fator significativo ($p = 0.1247$), a relação volumoso/concentrado foi utilizada no ajuste do modelo. A relação volumoso/concentrado pode trazer informações importantes sobre o equilíbrio da dieta. A utilização do N no rúmen depende da presença de carboidratos que fornecem energia e carbono para a fixação da amônia e consequentemente, elevação da síntese de proteína microbiana (CARDOSO et al., 2017). Portanto, o desbalanceamento dessa relação pode comprometer o uso eficiente do N e causar alterações no teor NUL.

Quando o produtor considerou importante analisar o NUL em conjunto com a proteína do leite, observou-se que o valor de NUL reduz em 0,79 mg/dL para cada aumento de 1 no escore da percepção de importância da escala Likert. Respondentes que consideravam a análise muito importante (5 na escala) apresentaram valores de NUL 3,95 mg/dL menores que aqueles que consideraram pouco importante (1 na escala). Alguns autores observaram que com aumento da porcentagem de proteína no leite a concentração de NUL diminui (JONKER et al., 1999; JOHNSON; YOUNG, 2003). Jonker et al. (1999) concluíram que o aumento de 0,3 unidade percentual de proteína bruta no leite diminuiu a concentração de NUL em 1,2 mg/dL. Roy et al. (2011) ressaltam a relação inversa entre NUL e proteína

do leite, que poderia ser explicada pelas vias alternativas que o N pode seguir: incorporação na proteína do leite ou excreção como ureia. No entanto, outros estudos (KLUSMEYER et al., 1990; GODDEN et al., 2001b; RAJALA-SCHULTZ; SAVILLE, 2003; SHARMA et al., 2009) não encontraram relação significativa entre a proteína total do leite e o NUL.

Para aqueles que disseram achar muito importante não analisar o teor de NUL isoladamente, e sim em conjunto com status reprodutivo do animal, foi observado um aumento de 0,63 mg/dL para cada aumento de 1 no escore da percepção de importância. O desempenho reprodutivo de vacas em lactação associado ao nível de ureia nos animais é um assunto controverso. Autores como Kaim et al. (1983), Bruckental et al. (1989), Canfield et al. (1990), Butler e Elrod (1991), Butler et al. (1996) e Larson et al. (1997) demonstram uma diminuição significativa na taxa de concepção em vacas que apresentam concentrações de NUS iguais a 17, 32, 19, 16, 19 e 17 mg/dL, respectivamente. Já nos estudos de Folman et al. (1981), Howard et al. (1987) e Carroll et al. (1988), em que houve concentrações de NUL 15, 26 e 24 mg/dL, respectivamente, não observaram efeito negativo sobre a taxa de concepção dos animais. Staples et al. (1990) concluíram que os valores de NUS não são indicadores confiáveis para detecção de desordens reprodutivas em um rebanho. Porém, apontaram que valores acima de 16 mg/dL devam servir como sinal de alerta para os produtores.

Dos respondentes que declaram não utilizar a análise de NUL, 44% não sabiam para que serve a análise. Resultado semelhante ao encontrado por Jonker et al. (2002) onde 40% dos produtores de leite de Maryland e Virginia, nos Estados Unidos, declaram não saber o que era NUL. Entre os respondentes, 78% declaram não saber interpretar o teste, porém 100% declaram que se a análise se mostrasse útil para a melhoria dos resultados da fazenda, passariam a utilizar. Segundo Godden et al. (2001a), os resultados da análise devem ser associados a algumas medidas econômicas ou efeitos biológicos relevantes relacionados à eficiência da utilização de nitrogênio. Portanto, deve-se resaltar que o uso mais eficiente da proteína pode resultar em menores custos de produção, aumentando a rentabilidade das fazendas.

É importante frisar que, apesar da definição do público alvo e a identificação destes com o tema, ao encaminhar o convite explicando o assunto e objetivo da pesquisa, os respondentes que não conheciam ou não utilizavam a análise de NUL, podem não ter se sentido capazes ou seguros para responder às perguntas. Outras limitações importantes desse estudo, são a quantidade de perguntas, por se tratar de um questionário muito extenso, acreditamos que alguns respondentes possam ter abandonado a pesquisa, ou que possam ter perdido o encajamento, que resultaria em começar a responder as perguntas aleatoriamente, sem atenção, o que pode ter afetado os dados obtidos.

3.5. Conclusão

Dentre os fatores que influenciam os produtores a utilizar ou não a análise de NUL, o nível de escolaridade dos produtores e o sistema de produção adotado nas fazendas apresentaram associação. Porém, deve-se ter cautela ao interpretar esses resultados, uma vez que 81% dos entrevistados possuíam ensino superior completo, não sendo representativo da população de produtores no Brasil.

Os fatores e as percepções que ajudaram a explicar a variação dos valores do NUL foram o sistema produtivo, o recebimento ou não pela qualidade do leite, a utilização ou não de ureia na dieta, horário da coleta da amostra, o teor de proteína do leite e o status reprodutivo do animal.

Os respondentes que não utilizam a análise de NUL, em sua maioria, não sabem para que serve ou declararam não saber interpretar o teste. Porém, apresentam interesse em realizar a análise se esta proporcionar melhoria nos resultados da propriedade.

Os resultados deste questionário demonstram que fatores além dos nutricionais são considerados para a correta interpretação dos resultados da análise de NUL pelos respondentes. Além disso, mais estudos devem ser realizados para facilitar o acesso e interpretação dos resultados da análise independente do grau de instrução ou nível tecnológico do produtor.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- ARIAS, J.; ALONSO, A. N. Importância dos níveis de nitrogênio uréico no leite e no sangue de vacas leiteiras. In: Latin América Animal Science Meeting, **Anais...**1997.
- ARUNVIPAS, P. et al. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in Ayrshire dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. suppl 1, p. 320, 2002.
- ARUNVIPAS, P. et al. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in dairy cows in Prince Edward Island, Canada. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, n. 1–2, p. 83–93, 30 maio 2003.
- ARUNVIPAS, P. et al. Bulk tank milk urea nitrogen: Seasonal patterns and relationship to individual cow milk urea nitrogen values. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 3, p. 169–174, jul. 2004.
- BORSANELLI, A. C. et al. Escolaridade e volume de produção têm associação com a percepção de risco de produtores de leite no uso de produtos veterinários. **Pesq. Vet. Bras**, v. 34, n. 10, p. 981–989, 2014.
- BRUCKENTAL, I. et al. Effects of source and level of protein on milk yield and reproductive performance of high-producing primiparous and multiparous dairy cows. **Animal Production**, v. 48, n. 2, p. 319–329, 1989.
- BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAM, S. W. Plasma and Milk Urea Nitrogen in Relation to Pregnancy Rate in Lactating Dairy Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 4, p. 858–865, 1996.
- BUTLER, W. R.; ELROD, C. C. Nutrition and reproduction relationships in dairy cattle. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers (USA), **Anais...**1991.
- CANFIELD, R. W.; SNIFFEN, C. J.; BUTLER, W. R. Effects of Excess Degradable Protein on Postpartum Reproduction and Energy Balance in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 9, p. 2342–2349, 29 jun. 1990.
- CARDOSO, R. B. et al. Produção e composição química do leite de vacas em lactação mantidas a pasto submetidas à diferentes sistemas alimentares. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 18, n. 1, p. 113–126, 2017.

- CARLSSON, J.; BERGSTRÖM, J. The diurnal variation of urea in cow's milk and how milk fat content, storage and preservation affects analysis by a flow injection technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 35, n. 1, p. 67–77, 1994.
- CARLSSON, J.; BERGSTRÖM, J.; PEHRSON, B. Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation and herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow's milk. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 36, n. 2, p. 245–254, 1995.
- CARLSSON, J.; PEHRSON, B. The Relationships Between Seasonal Variations in the Concentration of Urea in Bulk Milk and the Production and Fertility of Dairy Herds. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 40, n. 1–10, p. 205–212, 1993.
- CARROLL, D. J. et al. Influence of Protein Intake and Feeding Strategy on Reproductive Performance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 12, p. 3470–3481, 14 abr. 1988.
- CHALUPA, W. Discussion of Protein Symposium. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 5, p. 1134–1146, 20 abr. 1984.
- COLDEBELLA, A. et al. Contagem de Células Somáticas e Produção de Leite em Vacas Holandesas Confinadas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 623–634, 2004.
- COLMENERO, J. J. O.; BRODERICK, G. A. Effect of Dietary Crude Protein Concentration on Milk Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 5, p. 1704–1712, 19 mar. 2006.
- CONTI, L. H. A. et al. Nitrogen balance and milk composition of dairy cows fed urea and soybean meal and two protein levels using sugar cane based diets. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 51, n. 3, p. 242, 19 dez. 2014.
- CORASSIN, C. H. et al. Avaliação de ferramentas utilizadas no balanceamento de dietas completas para vacas em lactação. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 2, 2 jul. 2004.
- CORREA, H. J.; CUÉLLAR, A. M. ; Aspectos clave del ciclo de la úrea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. **Rev Col Cienc Pec.** v. 17, n. 1, 2004.
- DANÉS, M.A.C; ANDRADE, A.F.M.S.R. Nutrição de precisão: como o NUL pode ajudar na formulação de dietas mais precisas? Parte II. **RadarTécnico: MilkPoint**, 2017. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/nutricao/nutricao-de-precisao-como-o-nul-pode-ajudar-na-formulacao-de-dietas-mais-precisas-parte-2-105480n.aspx>>. Acesso em : 10 jun. 2018.
- DOSKA, M. C. et al. Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows. **R. Bras. Zootec.**, v.41, n.3, p.692-697, 2012.
- EDWARDS, J. S.; BARTLEY, E. E.; DAYTON, A. D. Effects of Dietary Protein Concentration on Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 2, p. 243–248, 25 abr. 1980.
- FERREIRA, M. G. et al. Ureia e qualidade do leite. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, FAMED, ano III, n. 06, jan. 2006.
- FOLMAN, Y. et al. Performance, Rumen and Blood Metabolites in High-Yielding Cows Fed Varying Protein Percents and Protected Soybean. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 5, p. 759–768, 23 abr. 1981.
- GODDEN, S. M. et al. Milk Urea Testing as a Tool to Monitor Reproductive Performance in Ontario Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 6, p. 1397–1406, 2001a.

- GODDEN, S. M. et al. Relationships between milk urea concentrations and nutritional management, production, and economic variables in Ontario dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 5, p. 1128–39, 2001b.
- GUSTAFSSON, A. H.; PALMQUIST, D. L. Diurnal Variation of Rumen Ammonia, Serum Urea, and Milk Urea in Dairy Cows at High and Low Yields. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 475–484, 12 abr. 1993.
- HOF, G. et al. Milk Urea Nitrogen as a Tool to Monitor the Protein Nutrition of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 12, p. 3333–3340, 17 maio 1997.
- HOGAN, J. P. Protein and amino acid nutrition in the high producing cow. Quantitative Aspects of Nitrogen Utilization in Ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 58, n. 8, p. 1164–1177, 28 abr. 1974.
- HOWARD, H. J. et al. Influence of Dietary Protein on Reproductive Performance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 8, p. 1563–1571, 17 abr. 1987.
- HRISTOV, A. N. et al. Short communication: Variability in milk urea nitrogen and dairy total mixed ration composition in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 1579–1584, 2017.
- HUBER, J. T.; KUNG, L. Protein and Nonprotein Nitrogen Utilization in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 6, p. 1170–1195, 23 abr. 1981.
- IPHARRAGUERRE, I. R.; CLARK, J. H. Impacts of the Source and Amount of Crude Protein on the Intestinal Supply of Nitrogen Fractions and Performance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. E22–E37, 19 mar. 2005.
- JOHNSON, R. G.; YOUNG, A. J. The Association Between Milk Urea Nitrogen and DHI Production Variables in Western Commercial Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 9, p. 3008–3015, 30 mar. 2003.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using Milk Urea Nitrogen to Predict Nitrogen Excretion and Utilization Efficiency in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 10, p. 2681–2692, 1998.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk Urea Nitrogen Target Concentrations for Lactating Dairy Cows Fed According to National Research Council Recommendations. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 6, p. 1261–1273, 1999.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; HIGH, J. Use of Milk Urea Nitrogen to Improve Dairy Cow Diets. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 4, p. 939–946, abr. 2002.
- KAIM, M. et al. The effect of protein intake and lactation number on post-partum body weight loss and reproductive performance of dairy cows. **Animal Production**, v. 37, n. 2, p. 229–235, 1983.
- KAUFMANN, W. Variation in composition of the raw material milk with special regard to the urea content. **Milchwissenschaft (Germany, FR)**, 1982.
- KLUSMEYER, T. H. et al. Effects of Source and Amount of Protein on Ruminal Fermentation and Passage of Nutrients to the Small Intestine of Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 12, p. 3526–3537, 3 jun. 1990.
- KOHN, R. Caution needed when interpreting MUNs. **Hoard's Dairyman**, v. 145, n. 2, p. 58, 2000.

- LARSON, S. F.; BUTLER, W. R.; CURRIE, W. B. Reduced Fertility Associated with Low Progesterone Postbreeding and Increased Milk Urea Nitrogen in Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1288–1295, 12 abr. 1997.
- LEWIS, D. Blood-urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant. **The Journal of Agricultural Science**, v. 48, n. 4, p. 438–446, 1957.
- LUCCI, C. S. et al. Concentrações de nitrogênio na dieta, no sangue e no leite de vacas lactantes no período pós-parto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 258–263, 2006.
- MEYER, P. M. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Ver. Bras. Zootec.**, v. 35, n. 3, p. 1114–1121, 2006.
- MEYERS, L. S.; GAMST, G. C.; GUARINO, A. J. **Performing data analysis using IBM SPSS**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2013.
- MIETTINEN, P. V. A.; JUVONEN, R. O. Diurnal Variations of Serum and Milk Urea Levels in Dairy Cows. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 40, n. 3, p. 289–296, 4 set. 1990.
- OLIVEIRA, A. G. de et al. Diagnóstico socioeconômico da produção leiteira em três assentamentos de reforma agrária no semiárido do Estado de Sergipe. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1869–1878, jul. 2013.
- OLTNER, R.; EMANUELSON, M.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 12, n. 1, p. 47–57, 1985.
- PAIVA, V. R. et al. Teores proteicos em dietas para vacas Holandesas leiteiras em confinamento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 65, n.4, p. 1183-1191, 2013.
- PRICE, W. D. et al. Effect of high levels of urea in purified diets for lambs: growth and metabolism. **Journal of animal science**, v. 35, n. 4, p. 848–853, 1972.
- RAJALA-SCHULTZ, P. J.; SAVILLE, W. J. A. Sources of Variation in Milk Urea Nitrogen in Ohio Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 5, p. 1653–1661, 26 mar. 2003.
- ROSELER, D. K. et al. Dietary Protein Degradability Effects on Plasma and Milk Urea Nitrogen and Milk Nonprotein Nitrogen In Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 525–534, 12 abr. 1993.
- ROY, B. et al. Evaluation of milk urea concentration as useful indicator for dairy herd management: A review. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 6, n 1, p. 1-19, 2011.
- ROY, B.; MEHLA, R. K.; SIROHI, S. K. Influence of non-nutritional factors on urea and protein concentration in milk of Murrah buffaloes. **Asian Aust. J. Anim. Sci**, v. 16, n. 9, p. 1285–1290, 2003.
- SAS INSTITUTE. **User's guide: statistics**, Version 9.4. 2012.
- SEBRAE-Perfil do Produtor Rural. **Datasebrae**, 2018. Disponível em: <<https://datasebrae.com.br/perfil-do-produtor-rural/>>. Acesso em : 25 agos 2018.
- SHARMA, S.; JAIN, A.; PANKAJ, P. K. Effect of feeding various levels of protein on milk urea nitrogen (MUN) concentration as a management pointer in lactating riverine buffaloes (Bubalus Bubalis). **Buffalo Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 44–50, mar. 2009.
- SILVA, R. M. N. da et al. Uréia para Vacas em Lactação. 1. Consumo, Digestibilidade, Produção e Composição do Leite. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 30, n. 5, p. 1639-1649, 2001.

- SOARES, S. de O. et al. Perfil dos produtores de leite e caracterização técnica das propriedades leiteiras dos municípios de Rondon do Pará e Abel Figueiredo, Estado do Pará. **Veterinária em Foco**, v. 10, n. 02, p. 159–168, 2013.
- STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; CLARK, J. H. Relationship Between Ovarian Activity and Energy Status During the Early Postpartum Period of High Producing Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 4, p. 938–947, 10 abr. 1990.
- VAN DUINKERKEN, G. et al. Effect of Rumen-Degradable Protein Balance and Forage Type on Bulk Milk Urea Concentration and Emission of Ammonia from Dairy Cow Houses. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 3, p. 1099–1112, 19 mar. 2005.
- VIEIRA, S. Como elaborar questionários. In: **Como elaborar questionários**, 2009.
- WILSON, G. et al. Evaluation of Factors Responsible for Reduced Voluntary Intake of Urea Diets for Ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 41, n. 5, p. 1431, 8 ago. 1975.
- WOLFINGER, R. Covariance structure selection in general mixed models. **Communications in Statistics - Simulation and Computation**, v. 22, n. 4, p. 1079–1106, 1 jan. 1993.

4. VARIAÇÃO DO NITROGÊNIO UREICO NO LEITE (NUL) ATRAVÉS DE FATORES NÃO NUTRICIONAIS

VARIATION OF MILK UREIC NITROGEN (MUN) THROUGH NON-NUTRITIONAL FACTORS

RESUMO

Inúmeros fatores além dos nutricionais podem influenciar na concentração do nitrogênio ureico no leite (NUL). Este estudo foi conduzido com objetivo de desenvolver modelos que expliquem a variação do NUL utilizando fatores não nutricionais (gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado, contagem de células somáticas, relação gordura/proteína, número de dias em lactação, número de lactações e média de produção de leite (kg/dia)). 117.443 testes diários de 53 rebanhos que enviaram amostras de leite para a Clínica do Leite (ESALQ/USP) entre janeiro de 2016 e dezembro 2018. Foi realizada análise de agrupamento, resultando em sete *clusters*. Para cada *cluster*, modelo de regressão linear múltipla misto foi aplicado. Nesse modelo, os fatores mês e ano foram tratados como aleatórios, além de as medidas repetidas serem consideradas dentro de uma mesma fazenda. As fazendas tiveram a variação do NUL explicada pelas variáveis cluster 1: PROT, LACT, LCCS, RELGP, DEL e produção de leite; cluster 2: PROT, LACT, ST, LCCS, DEL e produção de leite; cluster 3: PROT, LACT, LCCS, RELGP, DEL, NL e produção de leite; cluster 4: GORD; cluster 6: PROT, RELGP e DEL. Os *clusters* 5 e 7 não apresentaram variáveis significativas. Inúmeros fatores podem influenciar as concentrações de NUL. O modelo gerado para cada *cluster* foi influenciado por diferentes variáveis estudadas; somente ESD não apresentou ajuste a nenhum modelo proposto.

Palavras-chave: Nitrogênio ureico no leite; Nutrição; Vacas leiteiras

ABSTRACT

Numerous factors besides nutritional ones can influence milk urea nitrogen (MUN) concentration. This study was conducted to develop models that explain MUN variation using non-nutritional factors (fat, protein, lactose, total solids, defatted dry extract, somatic cell count, fat/protein ratio, number of days in lactation, number of lactations and average milk production (kg/day)). 117,443 daily tests from 53 cattle that sent milk samples to *Clínica do Leite* (Milk Clinic) (ESALQ / USP,) between January 2016 and December 2018, were used. A cluster analysis was conducted and seven clusters were formed. For each cluster, a mixed generalized linear model was applied. In this model, the month and year factors were considered random, and the repeated measures were considered within the same farm. The farms had the MUN variation explained by the variables cluster 1: PROT, LACT, SCCL, FPRatio, LD and milk production; cluster 2: PROT, LACT, TS, SCCL, LD and milk production; cluster 3: PROT, LACT, SCCL, FPRatio, LD, NL and milk production; cluster 4: FAT; cluster 6: PROT, FPRatio and LD. Clusters 5 and 7 did not present significant variables. Numerous factors that may influence MUN concentrations. The model generated for each cluster was influenced by the different variables studied; only DDE did not fit any proposed model.

Keywords: Urea nitrogen in milk; Nutrition; Dairy cows

4.1. Introdução

O principal objetivo das análises realizadas no leite é avaliar sua qualidade nutricional e microbiológica. Algumas análises também podem ser utilizadas para o monitoramento do status nutricional das vacas. A concentração de nitrogênio ureico no leite (NUL) é um parâmetro já conceituado para o monitoramento da nutrição proteica dos animais (JONKER et al., 1999), principalmente para a adequação da relação entre proteína e energia da dieta de vacas em lactação (OLTNER et al., 1985; BRODERICK; CLAYTON, 1997; MEYER et al., 2006; ROY et al., 2011).

As concentrações de NUL são influenciadas pela concentração e ingestão de proteína bruta na dieta e poderia, portanto, ser usado para mensurar a eficiência da utilização de N na produção de leite (HUHTANEN, et al. 2015). O correto manejo nutricional é um fator determinante para a lucratividade da atividade leiteira, sendo essencial para aumentar o nível de produção de leite e diminuir os gastos de uma propriedade. Portanto, a detecção rápida de alterações no teor de uréia tem um grande significado para o controle nutricional e lucratividade da propriedade (XIE, et al. (2019).

Apesar dos avanços tecnológicos nos equipamentos de análise de leite, a análise de NUL não é aproveitada, em seu amplo potencial, pelas fazendas brasileiras como ferramenta para avaliação do status nutricional do rebanho. A utilização da análise, aliada a fatores nutricionais e não nutricionais, permitiria, ao produtor, reduzir a proteína bruta da dieta de forma eficiente sem perder em produção através do refinamento da nutrição na propriedade.

Para correta interpretação dos dados de NUL, é importante considerar, entre outros fatores ligados à dieta, a composição do leite, como a porcentagem de proteína (PROT), gordura (GORD), lactose (LACT), sólidos totais (ST), relação gordura/proteína (RELGP), contagem de células somáticas (CCS). Além da produção de leite, o número de dias em lactação (DEL) e o número de lactações (NL) dos animais (JONKER et al., 1998; ARUNVIPAS et al., 2003; ROY et al. 2011; DOSKA et al., 2012).

Modelos matemáticos têm sido desenvolvidos a fim de prever a concentração de NUL e, assim, facilitar a sua utilização na adequação de dietas e na predição do nitrogênio excretado ao meio ambiente (JONKER et al., 1998).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi desenvolver modelos que explicassem a variação do NUL, utilizando fatores não nutricionais.

4.2. Material e métodos

O banco de dados original incluía análise individual das vacas sendo composto pelas variáveis NUL (em mg/dL, miligramas por litro), GORD (%), PROT (%), LACT (%), extrato seco desengordurado (ESD) (%), ST (%), CCS (em mil células/mL). Além de conter a data do último parto, o NL e a média da produção de leite dos animais, totalizando 626.441 testes diários (TD) de 1.133 rebanhos que enviaram amostras de leite para a Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), entre janeiro de 2016 e dezembro 2018.

A triagem dos dados foi feita respeitando critérios lógicos e de distribuição dos dados. Os rebanhos que não apresentavam análise de todas as variáveis estudadas e observações com valores extremos foram excluídos do banco de dados. Dessa forma, os rebanhos que permaneceram no estudo

apresentaram: $GORD \geq 1\%$ e $\leq 7\%$; $PROT \geq 2,5\%$ e $\leq 4,25\%$; $LACT \geq 4\%$ e $\leq 5,2\%$; $ST \geq 8\%$ e $\leq 16\%$; $NUL \geq 4\%$ e $\leq 25\%$. As variáveis para CCS (≥ 1.000 e $\leq 9.999.000$) e ESD ($\geq 7.42\%$ e $\leq 10.4\%$) não apresentaram exclusões, pois apresentaram distribuição normal. Isso foi feito visando que a população estudada fosse a mais representativa possível, considerando as características dos rebanhos brasileiros, de modo que possíveis erros de coletas e análises fossem descartados. Após todas as exclusões, permaneceram no estudo 117.443 TD de 53 rebanhos (Figura 1).

Figura 1. Descrição da triagem dos dados

Os rebanhos eram localizados nos Estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco. Entretanto, 49% dos rebanhos eram da região Sudeste (São Paulo e Minas Gerais), 30,2% na região Nordeste (Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco), 18,9% na região Sul (Catarina e Paraná) e apenas 1,9% na região Centro-Oeste (Goiás).

Foram criadas as variáveis número de dias em lactação (DEL) e relação gordura/proteína (RELGP). Para calcular o DEL, foi realizada a subtração da data do último parto pela data da coleta da amostra. Já a RELGP foi obtida da divisão entre a porcentagem de gordura pela porcentagem de proteína do leite.

4.2.1. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas no software SAS 9.4 (2012). Inicialmente, o n amostral foi apresentado e as medidas descritivas gerais foram calculadas utilizando o PROC MEANS para todas as variáveis estudadas.

A distribuição normal foi utilizada para as variáveis GORD, PROT, LACT, ESD e ST, enquanto a distribuição lognormal foi utilizada para a CCS. A normalidade foi verificada por meio de histogramas, gráficos quantil-quantil e testes estatísticos (PROC UNIVARIATE do SAS) e atenderam tal pressuposição.

Fazendas semelhantes foram agrupadas para criação de grupos homogêneos através da análise de agrupamento (PROC CLUSTER). Foram formados sete *clusters*, onde as fazendas pertencentes a um grupo são o mais semelhante possível entre si e diferente dos restantes (Figura 2). Para melhor visualização dos grupos, para cada *cluster*, foi gerado um gráfico STAR. Na primeira etapa foi utilizado o PROC REG para seleção de variáveis e verificar se alguma das variáveis explicativas era correlacionada, através da análise de colinearidade. Para estudar os efeitos da variação do NUL explicado pelas variáveis “gordura”, “proteína”, “lactose”, “sólidos totais”, “extrato seco desengordurado”, “contagem de células somáticas”, “relação gordura/proteína”, “número de dias em lactação”, “número de lactações” e “média de produção de leite” (vaca/dia), em uma segunda etapa, após definição das variáveis que devem ser usadas, um modelo de regressão linear múltipla misto foi aplicado por meio do PROC GLIMMIX do SAS para cada *cluster* formado. Nesse modelo, os fatores mês e ano foram tratados como aleatórios, além de considerarmos as medidas repetidas dentro de uma mesma fazenda. O ajuste do modelo foi verificado por meio dos critérios de informação Bayesiano e Akaike (BIC e AIC) (WOLFINGER, 1993). A significância estatística foi considerada ao nível de 5% de probabilidade (0.05). O modelo final ficou composto pelas variáveis apresentadas na Tabela 2.

4.3. Resultados

O banco de dados final utilizado nas análises incluiu 117.443 TD de 53 rebanhos. A maioria dos rebanhos era da região Sudeste (49%), seguida da região Nordeste (30,2%), da região Sul (18,9) e da região Centro-Oeste (1,9%) (Figura 3). A média geral de concentração de nitrogênio ureico encontrada no leite foi de 13,2 mg/dL (amplitude de 4 a 25). Os animais apresentaram produção média de 31,19 (kg/dia) de leite (mínima de um e máxima de 60,97 kg/dia), com média de duas lactações (mínima de um e máxima de oito lactações) e 153 dias em lactação (mínimo de um e máximo de 500 dias em lactação). A composição do leite para gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado apresentou, em média, 3,8 (amplitude de 1 a 7%), 3,24 (amplitude de 2,5 a 4,25%), 4,6 (amplitude de 4 a 5,2%), 12,69 (amplitude de 8,78 a 16%) e 8,9% (amplitude de 7,42 a 10,4%), respectivamente. A média de relação gordura/proteína do leite foi de 1,17 (amplitude de 0,27 a 2,72). A média da contagem de células somáticas apresentada foi de 245 mil céls/mL. Após o agrupamento, foi realizada a composição média das variáveis amostradas e o número de fazendas por *cluster* (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição da distribuição dos dados

Variável	CLUSTER 1	CLUSTER 2	CLUSTER 3	CLUSTER 4	CLUSTER 5	CLUSTER 6	CLUSTER 7
Proteína (%)	3,29	3,32	3,29	3,30	3,11	2,98	3,46
Gordura (%)	3,59	3,72	3,76	3,72	2,17	4,35	3,61
Lactose (%)	4,62	4,58	4,51	4,60	4,63	4,72	4,52
Sólidos totais (%)	12,50	12,61	12,56	12,64	10,90	13,02	12,61
Extrato seco desengordurado	8,90	8,89	8,80	8,92	8,73	8,67	8,99
LCCS	5,04	5,24	5,35	5,39	4,97	4,92	5,58
Relação gordura/proteína	1,09	1,12	1,15	1,15	0,69	1,48	1,05
Dias em lactação	174	151	201	54	116	125	94
Número de lactações	2,15	2,16	2,24	1,63	3,30	1,81	2,82
Produção de leite (kg/dia)	28,46	20,35	23,10	12,32	20,15	37,15	12,23
Nitrogênio ureico (mg/dL)	13,5	12,4	14,9	13	13,4	13,4	13,3
Número de testes diários	59877	15977	2333	132	74	2947	297
Número de Fazendas	28	14	4	2	2	2	1

*LCCS = Logaritmo natural (contagem de células somáticas)

Para proteína, o *cluster* 7 obteve a maior média (3,46%); o *cluster* 6, a menor média (2,98). Para gordura, o *cluster* 6 obteve a maior média (4,35%); o *cluster* 5, a menor (2,17%). Para lactose, o *cluster* 6 obteve a maior média (4,72%); o *cluster* 3, a menor (4,51%). Para sólidos totais, o *cluster* 6 obteve a maior média (13,02%); o *cluster* 5, a menor (10,90%). Para extrato seco desengordurado, o *cluster* 7 obteve a maior média (8,99%); o *cluster* 6, a menor (8,67%). Para RELGP, o *cluster* 6 obteve a maior média (1,48); o *cluster* 5, a menor (0,69). Para dias em lactação, o *cluster* 3 obteve a maior média (201 dias); o *cluster* 4, a menor (54 dias). Para número de lactações, o *cluster* 5 obteve a maior média (3,3); o *cluster* 4, a menor (1,63). Para produção de leite (kg/dia), o *cluster* 6 obteve a maior média (37,15); o *cluster* 7, a menor (12,23) (Figura 4).

Figura 4. Médias por *cluster* – Gráfico star

LCCS = Logaritmo natural (contagem de células somáticas).

DEL = Dias em lactação.

Por meio do modelo linear gerado, observa-se que, para cada *cluster*, diferentes variáveis se ajustaram para explicar a variação do NUL. As variáveis que resultaram em melhor ajuste do modelo final estão na Tabela 2. As fazendas do *cluster* 1 tiveram a variação do NUL explicada pelas variáveis PROT, LACT, LCCS, RELGP, DEL e produção de leite. As fazendas do *cluster* 2, as variáveis PROT, LACT, ST, LCCS, DEL e produção de leite se ajustaram melhor ao modelo final. Para o *cluster* 3, no qual foram agrupadas as fazendas onde os animais possuíam maior média de dias em lactação (201 dias), as variáveis PROT, LACT, LCCS, RELGP, DEL, número de lactações e produção de leite se ajustaram melhor. As fazendas do *cluster* 4 possuíam animais com menos dias em lactação (54) e número de lactações (1,63);

nesse cenário, apenas a variável GORD apresentou significância no modelo. As fazendas do *cluster* 6 tinham uma média baixa de PROT (2,98) e médias maiores de GORD, RELGP e produção de leite com 4,35%, 1,48 e 37,15 kg/dia, respectivamente; as variáveis que melhor se ajustaram ao modelo para este *cluster* foram PROT, RELGP e DEL. O *cluster* 5, quando comparado aos demais, apresentou a menor porcentagem de GORD (2,17), RELGP (0,69) e ST (10,90), além de possuir a maior média de número de lactações dos animais (3,30). A fazenda do *cluster* 7 possuía a maior média de GORD (3,46) e a menor média de produção de leite (12,23). Os *cluster* 5 e 7 não apresentaram variáveis significativas.

Tabela 2. Variáveis do modelo final

Variável	CLUSTER 1	CLUSTER 2	CLUSTER 3	CLUSTER 4	CLUSTER 5	CLUSTER 6	CLUSTER 7
Intercept	3.4307	7.6271	15.0293	15.0098	-	7.4504	-
Proteína (%)	1.7115	1.0477	0.2116	-	-	1.4306	-
Gordura (%)	-	-	-	0.7746	-	-	-
Lactose (%)	0.6140	-0.2819	-0.4250	-	-	-	-
Sólidos totais (%)	-	0.2624	-	-	-	-	-
LCCS	-0.3232	-0.3928	-0.2712	-	-	-	-
Relação gordura/proteína	1.1466	-	1.8436	-	-	0.4708	-
Dias em lactação	0.001905	-0.00187	0.002682	-	-	0.007045	-
Número de lactações	-	-	-0.4772	-	-	-	-
Produção de leite (Kg/dia)	0.04864	0.09530	0.02513	-	-	-	-
Extrato seco desengordurado	-	-	-	-	-	-	-
Número de testes diários	59877	15977	2333	132	74	2947	297

LCCS = Logaritmo natural (contagem de células somáticas).

4.4. Discussão

Existem inúmeros fatores que podem influenciar a concentração de NUL. O objetivo deste estudo foi definir modelos que explicassem a variação do NUL, utilizando fatores não nutricionais. O modelo gerado para cada grupo de fazendas (*cluster*) foi influenciado por quase todas as variáveis estudadas, com exceção da variável ESD. Entretanto, os *clusters* 5 e 7 não apresentaram variáveis significativas que ajudassem a explicar a variação do NUL para essas fazendas.

As fazendas do *cluster* 1 possuíam média de nitrogênio ureico de 13,5 mg/dL, apresentando no modelo uma associação positiva com as variáveis PROT, LACT, RELGP, DEL e produção de leite (kg/dia), e uma associação negativa com a variável LCCS. Quando comparado aos outros *clusters* observamos que apenas o *cluster* 1 possui uma associação positiva entre NUL e LACT, ou seja, quanto maior a concentração de LACT maiores os valores encontrados de NUL, diferente dos clusters 2 e 3 que também apresentaram associação entre as variáveis, porém, em sentido negativo. O que corrobora com os resultados encontrados por Meyer et al. (2012), onde observaram uma associação negativa entre as variáveis, a cada aumento de uma unidade percentual de lactose, ocorreu decréscimo na concentração de NUL de, aproximadamente, 1,0 mg/dL.

O *cluster 2* possuía as fazendas com menor média de nitrogênio ureico (12,4 mg/dL), sendo o único *cluster* a ter o modelo influenciado pela variável sólidos totais e uma associação negativa com a variável dias em lactação. Ao estudar a correlação entre NUL e ST, Meyer et al. (2006), por meio de regressão linear simples, encontraram coeficientes de correlação positivos entre as variáveis ($r = 0,2132$). Entretanto, os autores destacam a alta correlação entre produção de leite e sólidos totais ($r = 0,9323$). Pelo coeficiente de determinação, dentre os componentes do leite, a concentração de sólidos totais explicou aproximadamente 25% da variabilidade do NUL. Além disso, deve-se considerar o estágio da lactação para correta interpretação do NUL (BARROS et al. 2019), Godden et al. (2001a) relataram uma associação positiva entre as variáveis NUL e DEL, mas, não linear. Dessa forma os valores de NUL, são menores no início da lactação, atingem um pico e caem ao final da lactação. Os autores observaram concentrações de NUL menores nos primeiros 60 dias, que aumentaram entre 60 e 150 e diminuíram após 150 dias de lactação. Apesar de para esse *cluster* termos encontrado uma associação negativa entre NUL e DEL devemos considerar que o grupo de animais estudado apresentava em média 151 dias em lactação, que corrobora com a fase de declínio do NUL como observado no trabalho de Godden et al. (2001a).

As fazendas do *cluster 3* apresentaram a maior média de nitrogênio ureico dos grupos formados (14,9 mg/dL), sendo o único grupo que apresentou associação (negativa) com o número de lactações. Dentre as variáveis que podem explicar as variações no modelo, esse grupo de fazendas se destaca por apresentar o maior DEL (201) quando comparado aos outros *clusters* estudados. O *clusters 3* apresentou uma associação positiva para a variável DEL, resultado semelhante ao de Arunvipas et al. (2002), que encontraram uma associação positiva, porém, não linear, onde foi observado um menor nível de NUL (10,14 mg/dL) nos primeiros 30 dias, atingindo seu pico no quarto mês de lactação (11,80 mg/dL) e diminuindo no final da lactação (10,56 mg/dL). Doska et al. (2012) encontraram um pico nas concentrações de NUL entre 151 e 180 dias no leite (16,35 mg/dL). Outros autores reportaram que, no primeiro mês de lactação, foram encontrados níveis mais baixos de NUL (CARLSSON et al., 1995; EMANUELSON et al., 1993; GODDEN et al., 2001a; RAJALA-SCHULTZ et al., 2001; ARUNVIPAS et al., 2002). O consumo de MS irregular, a adaptação da microbiota ruminal e a capacidade absorptiva podem ter causado as diferentes concentrações no nível de NUL durante os diferentes estágios de lactação.

Neste estudo, a variável de número de lactações apresentou uma associação negativa apenas as fazendas do *cluster 3*. Jonker et al. (1998), utilizando modelos para prever mudanças no NUL devido ao número de lactações, observaram que vacas em primeira lactação apresentavam maior teor de NUL. Esse dado corrobora com os estudos de Doska et al. (2012): vacas em primeira lactação apresentam maior concentração de NUL do que vacas de segunda lactação ou mais (16,16, 15,95 e 15,45 mg/dL, respectivamente). Oltner et al. (1985), Arunvipas et al. (2003), Rajala-Schultz e Saville (2003) e Johnson e Young (2003) relatam valores mais baixos de NUL em animais de primeira lactação. Já, Schepers e Meijer (1998), Eicher et al. (1999) e Arunvipas et al. (2002) não reportaram diferenças na concentração de NUL entre animais primíparas e multíparas. Eicher et al. (1999) e Doska et al. (2012) atribuíram a influência do número de partos sob o NUL ao reflexo da diferente gestão e alimentação proporcionada a vacas primíparas, podendo, por serem nutricionalmente mais exigentes, receber excesso de proteína bruta na dieta.

A porcentagem de GORD explica a variação do NUL apenas nas fazendas agrupadas no *cluster* 4 apresentando uma associação positiva no modelo. Essas fazendas possuíam, como característica, o nitrogênio ureico de 13mg/dL, o menor DEL (54) e o menor número de lactações (1,63) dentre as fazendas estudadas. Jonker et al. (1998) e Rajala-Schultz e Saville (2003) também encontraram uma associação positiva entre a concentração de NUL e os teores de gordura. Segundo Jonker et al. (1998), a alteração de $\pm 0,5$ unidade percentual de gordura resulta na alteração da concentração de NUL de $\pm 1,70$ mg/dL. Entretanto, Doska et al. (2012) encontraram uma correlação negativa muito fraca ($r = -0,11$; $p < 0,01$). Johnson e Young (2003), ao estudarem vacas das raças Holandesa e Jersey, observaram que, quando o percentual de gordura do leite estava dentro da faixa considerada normal para cada raça, a variação do nível de NUL foi muito pequena. Porém, quando o percentual de gordura aumentou, a concentração de NUL diminuiu. Henao-Velásquez et al. (2014) relataram que o NUL aumentou de 16,17 para 18,59 mg/dL quando a concentração de GORD do leite passou de 25 para 45 g/kg, e diminuiu para 17,0 mg/dL quando a gordura aumentou para 59,9 g/kg. Jaquette et al. (1986) e Klusmeyer et al. (1990), em seus estudos, não relataram associação entre NUL e o teor de gordura do leite.

O modelo do *cluster* 6 foi significativo para as variáveis PROT, RELGP e DEL. Esse grupo de fazendas apresentou média de nitrogênio ureico de 13,4 mg/dL e se destaca por apresentar as maiores porcentagens de GORD (4,35), LACT (4,72), ST (13,02), RELGP (1,48), produção de leite (37,15 kg/dia) e as menores porcentagens de PROT (2,98) e ESD (8,67). Vários estudos relatam uma relação positiva entre a concentração de ureia e a produção de leite, porém apesar de apresentar a maior média de produção das fazendas estudadas, essa variável não se adequou ao modelo para explicar a variação do NUL nas fazendas no *cluster* 6. É importante observar que apesar da alta produção de leite do *cluster* 6, este apresenta a menor porcentagem de proteína no leite e valores considerados normais de NUL o que pode indicar um alto aproveitamento da proteína dietética ou uma dieta balanceada.

Gulinski et al. (2016) relatam claramente que o nível da produtividade do leite é um dos principais fatores que influenciam o aumento do nível de ureia no leite. Doska et al. (2012) encontrou uma correlação linear moderada e positiva entre NUL e produção de leite ($r = 0,34$; $p < 0,01$), semelhante aos resultados encontrados por Johnson e Young (2003) e Rajala-Schultz e Saville (2003). Já Godden et al. (2001b) relataram associação positiva, porém não linear entre a produção de leite e a concentração de NUL. Meyer et al. (2006), encontraram uma correlação positiva entre NUL e produção de leite ($r = 0,2670$). Segundo os autores, para cada aumento de 1 kg na produção de leite, ocorre aumento de 0,10 mg/dL na concentração de NUL. Arunvipas et al. (2002) também observaram uma correlação positiva, porém encontraram um aumento menor, de 0,05 mg/dL, no NUL. Entretanto, Jonker et al. (1998) observaram que o valor de NUL poderia aumentar ou diminuir em 2,85 mg/dL para cada aumento ou haveria diminuição de 2.000 kg de leite/vaca/lactação para rebanhos com potencial de produção de 10.000 kg de leite/vaca/lactação.

O aumento do NUL correlacionado ao aumento da produção de leite pode ser atribuído a fatores dietéticos (KAUFMANN, 1982). A forte correlação existente entre a produção de leite e relação proteína/energia da dieta é reportada por diversos autores (OLTNER; WIKTORSON, 1983; OLTNER et al., 1985; BRODERICK; CLAYTON, 1997; JONKER et al., 1998). Em busca do aumento da produção de leite, ocorrem incrementos crescentes no teor de proteína na dieta, porém a resposta de produção à proteína adicional é cada vez menor, o que acarretaria no aumento da concentração do NUL.

Entretanto, alguns autores não encontraram relacionamento entre produção de leite e NUL (GUSTAFSSON; CARLSSON, 1993; BAKER et al., 1995, 1996; Carroll et al., 1988; Roy et al., 2003; HENAO-VELÁSQUEZ et al., 2014) ou encontraram um efeito negativo (ISMAIL et al., 1996).

Dentre as variáveis que podem explicar as variações no modelo, a porcentagem de PROT influenciou os modelos dos *clusters* 1, 2, 3 e 6 apresentando uma associação positiva. Jonker et al. (1999), ao desenvolver um modelo para estimar a excreção de nitrogênio pelos animais, concluíram que o aumento de 0,3 unidade percentual de PROT no leite diminuiu a concentração de NUL em 1,2 mg/dL. Esse dado é compatível com os resultados encontrados por Johnson e Young (2003), que observaram que, com o aumento da porcentagem da PROT do leite, a concentração de NUL diminui. Roy et al. (2011) ressaltam a relação inversa entre NUL e concentração de PROT, que poderia ser explicada pelas vias alternativas que o N pode seguir: incorporação na PROT do leite ou excreção como ureia. No entanto, outros estudos não encontraram relação significativa entre a proteína total do leite e o NUL (KLUSMEYER et al., 1990; GODDEN et al., 2001b; RAJALA-SCHULTZ; SAVILLE, 2003; SHARMA et al., 2009).

O LCCS influenciou os modelos dos *clusters* 1, 2 e 3, apresentando, em todos, uma associação negativa. Alguns trabalhos descreveram a relação entre a CCS e o NUL, demonstrando que a mastite pode influenciar a concentração de ureia na amostra do quarto infectado. Licata (1985), DePeters e Ferguson (1992), Faust e Kilmer (1996), Godden et al. (2001b), Rajala-Schultz e Saville (2003) e Johnson e Young (2003) encontraram uma correlação negativa entre a concentração de CCS e o NUL. Roy et al. (2001) indicaram que, à medida que a intensidade da infecção aumentou de leve para moderada, as concentrações de NUL diminuíram. Arunvipas et al. (2002) relataram que, a cada aumento no escore linear da contagem de células somáticas das vacas em uma unidade, a concentração de NUL diminuiu em 0,4 mg/dL. Pedraza et al. (2006) relataram que a concentração de NUL aumentou significativamente com o aumento da CCS. Entretanto, Eicher et al. (1999) e Henao-Velásquez et al. (2014) não observaram influência da CCS sobre as concentrações de NUL.

4.5. Conclusão

Inúmeros fatores podem influenciar as concentrações de NUL. O modelo gerado para cada grupo de fazendas (*cluster*) foi influenciado por diferentes variáveis estudadas; somente a variável ESD não apresentou ajuste a nenhum modelo proposto.

As fazendas tiveram a variação do NUL explicada pelas variáveis *cluster* 1: PROT, LACT, LCCS, RELGP, DEL e produção de leite; *cluster* 2: PROT, LACT, ST, LCCS, DEL e produção de leite; *cluster* 3: PROT, LACT, LCCS, RELGP, DEL, NL e produção de leite; *cluster* 4: GORD; e *cluster* 6: PROT, RELGP e DEL. Os *clusters* 5 e 7 não apresentaram variáveis significativas.

Por fim, as correlações entre NUL e outras variáveis potencialmente importantes para o metabolismo proteico devem ser cuidadosamente estudadas para que recomendações mais específicas possam ser desenvolvidas. Adotar a análise de nitrogênio ureico como ferramenta para monitoramento proteico da dieta do rebanho permitiria, ao produtor, reduzir gastos em sua propriedade de forma eficiente, sem perda na produção, através do refinamento no manejo alimentar.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- ARUNVIPAS, P. et al. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in Ayrshire dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. suppl 1, p. 320, 2002.
- ARUNVIPAS, P. et al. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in dairy cows in Prince Edward Island, Canada. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, n. 1–2, p. 83–93, 30 maio 2003.
- BAKER, L. D.; FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Responses in Urea and True Protein of Milk to Different Protein Feeding Schemes for Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 11, p. 2424–2434, 12 abr. 1995.
- BARROS, T. et al. Short communication: Milk urea nitrogen as a predictor of urinary nitrogen and urea nitrogen excretions of late-lactation dairy cows fed nitrogen-limiting diets. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 1–7, 2019.
- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A Statistical Evaluation of Animal and Nutritional Factors Influencing Concentrations of Milk Urea Nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2964–2971, 12 abr. 1997.
- BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAM, S. W. Plasma and Milk Urea Nitrogen in Relation to Pregnancy Rate in Lactating Dairy Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 4, p. 858–865, 1996.
- CARLSSON, J.; BERGSTRÖM, J.; PEHRSON, B. Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation and herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow's milk. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 36, n. 2, p. 245–254, 1995.
- CARROLL, D. J. et al. Influence of Protein Intake and Feeding Strategy on Reproductive Performance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 12, p. 3470–3481, 14 abr. 1988.
- DEPETERS, E. J.; FERGUSON, J. D. Nonprotein Nitrogen and Protein Distribution in the Milk of Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3192–3209, 12 abr. 1992.
- DOSKA, M. C. et al. Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.3, p.692-697, 2012.
- EICHER, R.; BOUCHARD, E.; TREMBLAY, A. Cow level sampling factors affecting analysis and interpretation of milk urea concentrations in 2 dairy herds. **Canadian Veterinary Journal**, v. 40, n. 7, p. 487–492, 1999.
- EMANUELSON, M.; AHLIN, K. Å.; WIKTORSSON, H. Long-term feeding of rapeseed meal and full-fat rapeseed of double low cultivars to dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 33, n. 3–4, p. 199–214, 1993.
- FAUST, M. A.; KILMER, L. H. Determining variability of milk urea nitrogen reported by commercial testing laboratories. **Dairy Report: Iowa State University**, 1996.
- GODDEN, S. M. et al. Milk Urea Testing as a Tool to Monitor Reproductive Performance in Ontario Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 6, p. 1397–1406, 2001a.

- GODDEN, S. M. et al. Relationships between milk urea concentrations and nutritional management, production, and economic variables in Ontario dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 5, p. 1128–39, 2001b.
- GULINSKI, P.; SALAMONCZYK, E.; MLYNEK, K. Improving nitrogen use efficiency of dairy cows in relation to urea in milk – a review. **Animal Science Papers and Reports**. v. 34, n. 1, p. 5-24, 2016.
- GUSTAFSSON, A. H.; CARLSSON, J. Effects of silage quality, protein evaluation systems and milk urea content on milk yield and reproduction in dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 37, n. 1–2, p. 91–105, 1993.
- HENAO-VELÁSQUEZ, A. F. et al. Lactose and milk urea nitrogen: fluctuations during lactation in Holstein cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.43, n.9, p. 479-484, 2014.
- HUHTANEN, P. et al. Evaluation of between-cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3182–3196, 2015.
- ISMAIL, A. K.; HILLERS, J. K. Effect of Selection for Milk Yield and Dietary Energy on Yield Traits, Bovine Somatotropin, and Plasma Urea Nitrogen in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 4, p. 682–688, 12 abr. 1996.
- JAQUETTE, R. D.; RAKES, A. H.; CROOM, W. J. Effects of Dietary Protein on Milk, Rumen, and Blood Parameters in Dairy Cattle Fed Low Fiber Diets. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 4, p. 1026–1034, 18 abr. 1986.
- JOHNSON, R. G.; YOUNG, A. J. The Association Between Milk Urea Nitrogen and DHI Production Variables in Western Commercial Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 9, p. 3008–3015, 30 mar. 2003.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using Milk Urea Nitrogen to Predict Nitrogen Excretion and Utilization Efficiency in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 10, p. 2681–2692, 5 abr. 1998.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk Urea Nitrogen Target Concentrations for Lactating Dairy Cows Fed According to National Research Council Recommendations. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 6, p. 1261–1273, 1999.
- KAUFMANN, W. Variation in composition of the raw material milk with special regard to the urea content. **Milchwissenschaft (Germany, FR)**, 1982.
- KLUSMEYER, T. H. et al. Effects of Source and Amount of Protein on Ruminant Fermentation and Passage of Nutrients to the Small Intestine of Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 12, p. 3526–3537, 3 jun. 1990.
- LICATA, E. Subclinical mastitis and urea determination in cows' milk. **Obiettivi e Doc-Vet**, v. 6, n. 12, p. 65–67, 1985.
- MEYER, P. M. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3 SUPPL., p. 1114–1121, 2006.
- MEYER, P. M. et al. Validation of models for predicting milk urea nitrogen concentrations, estimating dry matter intake by the NRC (2001). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 5, p. 1271–1277, 2012.

- OLTNER, R.; EMANUELSON, M.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 12, n. 1, p. 47–57, 1985.
- OLTNER, R.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 10, n. 5, p. 457–467, 1983.
- PEDRAZA, C. G. Urea Milk Contents in Dairy Cows of Bío-Bío Region, Chile. **Agric. Téc.**, v. 66, n.3, sep. 2006.
- RAJALA-SCHULTZ, P. J. et al. Association Between Milk Urea Nitrogen and Fertility in Ohio Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 2, p. 482–489, 3 abr. 2001.
- RAJALA-SCHULTZ, P. J.; SAVILLE, W. J. A. Sources of Variation in Milk Urea Nitrogen in Ohio Dairy Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 5, p. 1653–1661, 26 mar. 2003.
- ROY, B. et al. Effect of udder health on milk urea concentration. **Ind. J. Anim. Prod. Manag.**, 3&4, p. 91–93, 2001.
- ROY, B. et al. Evaluation of milk urea concentration as useful indicator for dairy herd management: A review. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.6, n 1, p. 1-19, 2011.
- ROY, B.; MEHLA, R. K.; SIROHI, S. K. Influence of non-nutritional factors on urea and protein concentration in milk of Murrah buffaloes. **Asian Aust. J. Anim. Sci**, v. 16, n. 9, p. 1285–1290, 2003.
- SAS INSTITUTE. **User's guide: statistics**, Version 9.4. 2012.
- SCHEPERS, A. J.; MEIJER, R. G. M. Evaluation of the Utilization of Dietary Nitrogen by Dairy Cows Based on Urea Concentration in Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 579–584, 17 maio 1998.
- SHARMA, S.; JAIN, A.; PANKAJ, P. K. Effect of feeding various levels of protein on milk urea nitrogen (MUN) concentration as a managerial pointer in lactating riverine buffaloes (*Bubalus Bubalis*). **Buffalo Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 44–50, mar. 2009.
- XIE, W. Q.; XIAN, K.; XIAN, Y. Rapid and quantitative determination of urea in milk by reaction headspace gas chromatography. **Microchemical Journal**, v. 147, p. 838-841, 2019.
- WOLFINGER, R. Covariance structure selection in general mixed models. **Communications in Statistics - Simulation and Computation**, v. 22, n. 4, p. 1079–1106, 1 jan. 1993.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O nível de escolaridade dos produtores e o sistema de produção adotado nas fazendas apresentaram associação sob a utilização ou não da análise de nitrogênio ureico no leite (NUL).

Os fatores e as percepções que ajudaram a explicar a variação dos valores do NUL foram sistema produtivo, recebimento ou não pela qualidade do leite, utilização ou não de ureia na dieta, horário da coleta da amostra, o teor de proteína do leite e o status reprodutivo do animal.

Dentre os fatores não nutricionais, os teores de proteína (PROT), gordura (GORD), lactose (LACT), sólidos totais (ST), contagem de células somáticas (CCS), além de fatores como relação gordura/proteína (RELGP), número de dias em lactação (DEL), número de lactações (NL) e produção de leite devem ser considerados na utilização do NUL como ferramenta na avaliação do status nutricional dos animais.

Os resultados encontrados neste estudo evidenciam que inúmeros fatores podem influenciar as concentrações de NUL. Portanto, mais estudos e extensões devem ser realizados a fim de determinar valores de referência para análise no Brasil, deixar os produtores mais familiarizados com a ferramenta, bem como de suas limitações e vantagens, além de desenvolver recomendações mais específicas aos produtores.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Questionário

Consulta a Usuários do Laboratório da Clínica do Leite sobre o uso de análises de Nitrogênio Ureico no leite

POR FAVOR, LEIA O TERMO ABAIXO E DÊ O ACEITE AO FINAL.

Pesquisador Responsável: Renata Costa Coutinho

Fone: (19) 3422-3631

E-mail: gr@clinicadoleite.com.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr.(a) está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa “Composição do leite como ferramenta para análise do status nutricional de rebanhos leiteiros”. Neste estudo pretendemos analisar como o produtor utiliza os resultados da análise de nitrogênio ureico do leite para monitoramento do status nutricional do seu rebanho.

O motivo que nos leva a estudar tal assunto, é propor melhorias na apresentação dos resultados das análises de composição de leite, de forma a facilitar a compreensão e incentivar o uso destas pelo produtor como ferramenta para formulação da dieta do rebanho.

Para este estudo adotaremos o procedimento de aplicação de formulários com perguntas direcionadas a questões que possam caracterizar o entrevistado, além das questões específicas para quem utiliza ou não a análise de composição do leite para monitoramento da dieta ofertada ao rebanho.

Tal pesquisa apresenta risco baixo ao voluntário, uma vez que não o expõem a nenhum risco ou perigo.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar.

Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O (A) Sr (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Este termo de consentimento será arquivado pelo pesquisador responsável, na Escola Superior De Agricultura “Luiz De Queiroz” / ESALQ-USP.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

1- Você leu o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e concorda em participar desse estudo?

- () Sim
() Não

Caracterização do respondente

2- Qual o seu nível de escolaridade?

- () Não frequentou a escola formal / analfabeto
() Ensino básico incompleto
() Ensino básico completo
() Ensino médio incompleto
() Ensino médio completo

- ☐ Ensino superior incompleto
- ☐ Ensino superior completo
- ☐ Pós graduação incompleta
- ☐ Pós graduação completa

3- Qual é o seu cargo na fazenda?

- ☐ Proprietário (a)
- ☐ Gerente
- ☐ Supervisor (a)
- ☐ Operador (a)
- ☐ Consultor / Técnico (a)
- ☐ Outro: _____

Caracterização da fazenda

4- Onde a sua fazenda está localizada?

- ☐ Minas Gerais
- ☐ São Paulo
- ☐ Outro: _____

5- Qual o sistema de produção adotado em sua fazenda?

- ☐ Confinamento
- ☐ Pastejo
- ☐ Semi-confinamento (parte do manejo é realizado em pastejo e outra em confinamento)

6- Caso utilize sistema de confinamento, qual é o tipo?

- ☐ Free Stall
- ☐ Compost Barn
- ☐ Tie Stall
- ☐ Outro: _____

7- Qual a raça predominante em seu rebanho?

- ☐ Holandesa
- ☐ Jersey
- ☐ Pardo suíço
- ☐ Gir
- ☐ Vacas mestiças (derivada de cruzamento entre raças)
- ☐ Outro: _____

8- Qual o número de vacas em lactação atualmente? _____

9- Qual é o volume de leite (em litros) produzidos diariamente na fazenda?

10- Você participa de algum programa de valorização pela qualidade do leite produzido (bonificação/penalização por qualidade)?

- ☐ Sim
- ☐ Não

Nutrição do rebanho no período de SECA

Por favor, responda às questões a seguir, considerando as práticas de sua fazenda nos meses de abril a setembro.

11- Como é ofertado o concentrado aos animais?

- ☐ Misturado ao volumoso (TMR)

- ☐ Volumoso e concentrado fornecidos separadamente
☐ Outro: _____

12- Em qual momento é ofertado o concentrado?

- ☐ Durante a ordenha
☐ Após a ordenha
☐ À vontade, sem horário determinado
☐ Outro: _____

13- Os animais recebem ureia como suplemento na dieta?

- ☐ Sim
☐ Não

14- Qual a relação volumoso/concentrado (% na matéria seca) da dieta fornecida às vacas?
(Exemplo: 75:25, ou seja, 75% da matéria seca da dieta é composta por volumoso e 25% por concentrado)

Nutrição do rebanho no período das ÁGUAS

Por favor, responda às questões a seguir, considerando as práticas de sua fazenda nos meses de outubro a fevereiro.

15- Como é ofertado o concentrado aos animais ?

- ☐ Misturado ao volumoso (TMR)
☐ Volumoso e concentrado fornecidos separadamente
☐ Outro: _____

16- Em qual momento é ofertado o concentrado?

- ☐ Durante a ordenha
☐ Após a ordenha
☐ À vontade, sem horário determinado
☐ Outro: _____

17- Os animais recebem ureia como suplemento na dieta?

- ☐ Sim
☐ Não

18- Qual a relação volumoso/concentrado (% na matéria seca) da dieta fornecida às vacas?
(Exemplo: 75:25, ou seja, 75% da matéria seca da dieta é composta por volumoso e 25% por concentrado)

Práticas relacionadas à nutrição

19- Você divide em lotes as vacas em lactação?

- ☐ Sim
☐ Não

Práticas (I)

20- Os lotes recebem dietas diferenciadas?

- ☐ Sim
☐ Não

21- O que determina a formação do lote?

- ☐ () Nível de produção de leite
☐ () Contagem de células somáticas - CCS
☐ () Estágio reprodutivo
☐ () Idade
☐ () Escore de condição corporal -ECC
☐ () Estágio de lactação

Práticas (II)**22- Em sua fazenda, a alimentação do rebanho representa:**

- ☐ () Entre 20% e 39% do custo total de produção
☐ () Entre 40% e 60% do custo total de produção
☐ () Entre 61% e 80% do custo total de produção
☐ () Entre 81% e 95% do custo total de produção
☐ () Não sei responder

23- Em relação à seguinte afirmação: “Na formulação da dieta do rebanho a proteína é o nutriente mais barato.”, você:

- ☐ () Concorda plenamente
☐ () Concorda parcialmente
☐ () Não concorda nem discorda
☐ () Discorda parcialmente
☐ () Discorda plenamente

Práticas (III)

Assinale na escala o quão importante você considera cada um dos fatores abaixo para identificar o desbalanceamento na dieta do rebanho.

24- Queda na produção de leite

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

25- Problemas reprodutivos

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

26- Aparência das fezes

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

27- Problemas metabólicos (ex: acidose, laminite, timpanismo)

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

28- Gordura do leite abaixo de 3,2%

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

29- Proteína do leite abaixo de 3,0%

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

30- Baixo consumo da dieta fornecida

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

31- Mudanças no escore de condição corporal dos animais

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

Percepção sobre a análise de Nitrogênio Ureico no leite (NUL)

32- Em relação à seguinte afirmação: “Em minha fazenda as vacas estão consumindo aquilo que foi determinado/esperado. Ou seja: a dieta formulada é exatamente a mesma consumida pelos animais.”, você:

- () Concorda plenamente
 () Concorda parcialmente
 () Não concorda nem discorda
 () Discorda parcialmente
 () Discorda plenamente

33- Em relação à seguinte afirmação: “A partir da análise de NUL, pode-se monitorar a nutrição de vacas em lactação oferecendo a elas uma dieta mais balanceada, permitindo assim que expressem seu potencial de produção.”, você:

- () Concorda plenamente
 () Concorda parcialmente
 () Não concorda nem discorda
 () Discorda parcialmente
 () Discorda plenamente

34- Em sua fazenda, é realizada a análise de NUL?

- () Sim
 () Não

Percepção de quem UTILIZA a análise de nitrogênio no leite (NUL)

35- Em qual data foi realizada a última análise de NUL em sua fazenda? _____

36- Qual o último valor de NUL apresentado em sua fazenda? (Ex: 12.5) _____

37- Com que frequência é realizada análise de NUL em sua fazenda?

- () A cada 15 dias
 () Mensalmente
 () A cada três meses
 () Apenas quando altero a dieta do rebanho
 () Outro: _____

38- Você realiza a análise de NUL a partir de amostra individual (de cada vaca) ou do tanque de resfriamento?

- () Tanque
 () Individual

39- Quantas ordenhas são realizadas por dia em sua fazenda?

- () Uma ordenha
 () Duas ordenhas
 () Três ordenhas
 () Outro: _____

40- Para realizar a análise de NUL, você costuma fazer a coleta do leite sempre no mesmo horário (mesma ordenha)?

- ☐ Sim
- ☐ Não

41- Em qual(is) ordenha(s) você coleta amostra de leite para realização da análise de NUL?

- ☐ Manhã
- ☐ Tarde
- ☐ Noite
- ☐ A amostra é composta por todas as ordenhas do dia

42- O quanto você considera importante o uso da análise de NUL para monitoramento proteico/energético na dieta?

- ☐ Muito importante
- ☐ Importante
- ☐ Razoavelmente importante
- ☐ Pouco importante
- ☐ Não é importante

43- Em relação à seguinte afirmação: “Valores de 10 a 14mg/dL de NUL são adequados para os rebanhos brasileiros.”, você:

- ☐ Concorda plenamente
- ☐ Concorda parcialmente
- ☐ Não concorda nem discorda
- ☐ Discorda parcialmente
- ☐ Discorda plenamente

44- Em relação à seguinte afirmação: “O resultado da análise de NUL é um indicador de fácil interpretação.”, você:

- ☐ Concorda plenamente
- ☐ Concorda parcialmente
- ☐ Não concorda nem discorda
- ☐ Discorda parcialmente
- ☐ Discorda plenamente

45- Em relação à seguinte afirmação: “O custo financeiro da análise de NUL é baixo em relação à importância de seu resultado como indicador do ‘status’ nutricional de vacas em lactação.”, você:

- ☐ Concorda plenamente
- ☐ Concorda parcialmente
- ☐ Não concorda nem discorda
- ☐ Discorda parcialmente
- ☐ Discorda plenamente

46- Em relação à seguinte afirmação: “Ao avaliar os resultados da análise de NUL, deve-se considerar outros fatores, além dos nutricionais.”, você:

- ☐ Concorda plenamente
- ☐ Concorda parcialmente
- ☐ Não concorda nem discorda
- ☐ Discorda parcialmente
- ☐ Discorda plenamente

Assinale na escala o quão importante você considera cada um dos fatores abaixo, utilizados junto à análise de NUL, para modificar a dieta do rebanho.

47- Teor de proteína do leite

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

48- Teor de gordura do leite

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

49- Raça do animal

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

50- Número de lactações do animal

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

51- Produção de leite

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

52- Status reprodutivo do animal

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

53- Peso vivo do animal

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

54- Sazonalidade climática

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

55- Dias em lactação – DEL

Pouco importante	1	2	3	4	5	Muito importante
------------------	---	---	---	---	---	------------------

Percepção de quem NÃO utiliza a análise de nitrogênio ureico no leite

Assinale na escala indicando os motivos levam você a não utilizar a análise de NUL.

56- Não sei para que serve

Sei para que serve	1	2	3	4	5	Não sei para que serve
--------------------	---	---	---	---	---	------------------------

57- Considero caro

Não considero caro	1	2	3	4	5	Considero caro
--------------------	---	---	---	---	---	----------------

58- Não sei interpretar o resultado

Sei interpretar	1	2	3	4	5	Não sei interpretar
-----------------	---	---	---	---	---	---------------------

59- Nunca me ofereceram essa análise

Já me ofereceram	1	2	3	4	5	Não me ofereceram
------------------	---	---	---	---	---	-------------------

60- Não sei coletar amostras para esse teste

Sei coletar	1	2	3	4	5	Não sei coletar
-------------	---	---	---	---	---	-----------------

61- Não tenho interesse em realizar o teste

Tenho interesse	1	2	3	4	5	Não tenho interesse
-----------------	---	---	---	---	---	---------------------

62- Em relação à seguinte afirmação: “A mesma amostra coletada para a análise de composição pode ser utilizada para a análise de NUL.”, você:

- ☐ Concorde plenamente
- ☐ Concorde parcialmente
- ☐ Não concorda nem discorda
- ☐ Discorda parcialmente
- ☐ Discorda plenamente

63- Você alguma vez no passado, já solicitou análise de NUL?

- ☐ Sim
- ☐ Não

64- Se a análise de NUL se mostrasse importante para a melhoria dos resultados da fazenda (produtividade, rentabilidade etc) você a utilizaria?

- ☐ Sim
- ☐ Não
- ☐ Talvez

Resultado da análise de NUL

Uma forma para interpretar os resultados de nitrogênio ureico é combinar os valores de ureia com o teor de proteína bruta do leite. As figuras abaixo foram desenvolvidas pela equipe da Clínica do Leite para facilitar a interpretação dos resultados.

65- Ao avaliar as figuras abaixo, qual você considera mais fácil interpretar?

- ☐ Figura A
- ☐ Figura B

Figura A

NÍVEL DE UREIA E PROTEÍNA DO LEITE DOS ANIMAIS EM FUNÇÃO DA PRODUÇÃO

Figura B

Consulta finalizada

APÊNDICE B. Convite para participação do estudo.

Estamos desenvolvendo um projeto de pesquisa relacionado aos resultados da análise de Nitrogênio Ureico no Leite (NUL), um indicador importante sobre as condições nutricionais do rebanho. O principal objetivo desse trabalho é, além de demonstrar as aplicações desse teste, propor melhorias na forma de apresentação dos resultados.

Para que nossa pesquisa possa contribuir, de fato, com o avanço do setor, sua participação é muito importante.

Esse estudo está sendo desenvolvido, sob minha orientação, pela aluna de pós-graduação da ESALQ/USP Renata Costa Coutinho. O resultado do trabalho dará origem à uma dissertação de Mestrado e a artigos científicos que, futuramente, poderão ser utilizados como referência na área.

Certos de sua contribuição, agradecemos desde já. Caso você tenha alguma dúvida ou dificuldade para acessar ou responder o questionário, estamos à disposição.

Um abraço,

Prof. Dr. Paulo Fernando Machado
Diretor da Clínica do Leite