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

Teor de proteína no concentrado de vacas em lactação mantidas em pastagens de capim elefante

Marina de Arruda Camargo Danés

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

Piracicaba
2010

Marina de Arruda Camargo Danés
Engenheiro Agrônomo

Teor de proteína no concentrado de vacas em lactação mantidas em pastagens de capim elefante

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

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

Piracicaba
2010

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

Danés, Marina de Arruda Camargo
Teor de proteína no concentrado de vacas em lactação mantidas em pastagens de capim elefante / Marina de Arruda Camargo Danés . - - Piracicaba, 2010.
117 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Bovinocultura leiteira 2. Capim elefante 3. Lactação animal 4. Metabolismo animal 5. Pastagens 6. Suplementos proteícos para animais 7. Vacas I. Título

CDD 633.2
D179t

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

Aos meus pais, Ester de Arruda Camargo Danés e Raimundo Alonso Danés Ortiz, que me criaram para ser uma lutadora e sempre me incentivaram incondicionalmente a correr atrás de todos os meus sonhos, servindo de exemplo de garra, boa vontade e amor;

Ao meu irmão, Ricardo de Arruda Camargo Danés, que sempre me concedeu sua confiança e seu crédito desmedidamente, o que, sem dúvidas, foi essencial para que eu acreditasse em mim mesma e seguisse meus ideais,

***DEDICO*.**

Aos meus avós, Maria Antonieta Wilmers de Arruda Camargo, Antônio Carlos de Arruda Camargo, Alicia Margarita Ortiz Salvo e Luiz Miguel Danés Bley (in memorian);

Aos meus tios, Ângela, Cláudio, Inês, Carlos, Ana Paula, Tune, Roberto, Miguel, Eliana, Cecília, Flávio;

Aos meus primos, Pedro, Júlia, Renata, Felipe, Caio, Helena, Juliana, Leandro e Rafael;

*Por **realmente** serem minha família, por estarem sempre ali quando eu precisei e por me darem a certeza de poder contar sempre com eles,*

***OFEREÇO*.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por minha vida, minha família e meus amigos.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Clube de Práticas Zootécnicas, pela acolhida e importante contribuição na minha formação.

Ao Prof. Dr. Flávio Augusto Portela Santos, pela confiança compartilhada ao longo desses anos, pelas lições de vida e por todas as portas que me abriu.

Ao Marco Antônio Penati, querido Kueio, pela amizade, orientação e companhia diária durante a condução do experimento e por estar sempre ali, seja sábado, domingo, Natal ou carnaval.

Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos, por sua pessoa admirável, por seu coração enorme, onde sempre cabe mais um, por seus conselhos e orientações, por ser mestre e amigo.

Aos Prof. Dr. Luiz Gustavo Nússio, Prof. Dr. Sila Carneiro da Silva, Prof. Dr. Gerson Barreto Mourão, pelas incansáveis discussões e conversas que muito me ajudaram a tomar decisões importantes na condução deste trabalho.

À Prof. Dr. Carla Maris Bittar, por amizade incondicional, pela companhia e apoio em todos os momentos, por me fazer rir mais da vida.

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia, pelos ensinamentos técnicos e pessoais que tanto contribuíram para minha formação.

Ao querido Véinho (Sr. Laureano Alves da Silva) e a sua esposa D. Eva por serem meus pais em Piracicaba, por deixarem tudo mais fácil, por todo tempo gratificante que passamos juntos.

Aos amigos do Laboratório de Bromatologia, Carlos César Alves, pela orientação e ajuda na condução das análises laboratoriais e Tânia Aparecida Ferri, por todo carinho, cuidado e pelos bons momentos durante os cafés da vida.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, Neco, Tim, Joaquim, Primo, pela ajuda na condução do experimento e pelos ensinamentos de vida.

Aos colegas de pós graduação Lucas Jado Chagas (Paraíba), Luiz Roberto Dell'Agostinho Neto (Conçolo), João Ricardo Rebouças Dórea (Baiano), Arlindo Pacheco Junior (Juninho) e Mariana Pompêo de Camargo Gallo (Cocó) pela ajuda, paciência, compreensão, diversão e amizade, que nos fazem lembrar que tudo na vida passa e que um dia vamos todos sentar, rir e lembrar com saudade do que passou.

Aos estagiários Tonon, Alfinet, Patrícia, Bordado, Recruta e Herbívoro, pela oportunidade de desenvolver um trabalho em equipe, por trabalharem com seriedade, responsabilidade e comprometimento.

Às amigas e colegas de apartamento Fernanda Eliza de Jesus Silva e Ana Luiza Lopes da Costa, pela excelente convivência, companheirismo e amizade.

Ao meu querido Adenilson, companheiro e amigo, por ser essa pessoa tão especial que só trouxe alegria e serenidade para minha vida, pelo carinho e apoio diários, pela paciência e compreensão inigualáveis, por sua companhia maravilhosa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudos e do financiamento do projeto.

À Tortuga Cia. Zootécnica Agrária, pela doação do sal mineral utilizado no experimento.

MUITO OBRIGADA.

“O sucesso vem geralmente àqueles que estão muito ocupados para estar procurando por ele.”

(Henry David Thoreau)

“Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar; não apenas planejar, mas também acreditar.”

(Anatole France)

SUMÁRIO

RESUMO.....11
ABSTRACT.....13
1 INTRODUÇÃO.....15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....19
2.1 Exploração das plantas forrageiras tropicais para produção de leite.....19
2.2 Limitações nutricionais na produção de leite em pastagens tropicais.....25
2.4 Adequação protéica de dieta para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais.....29
3 MATERIAL E MÉTODOS.....35
3.1 Local, clima e instalações experimentais.....35
3.2 Experimentos de campo.....38
3.2.1 Experimento 1: avaliação do desempenho animal.....38
3.2.1.1 Período experimental, animais e tratamentos.....38
3.2.1.2 Delineamento estatístico.....39
3.2.1.3 Manejo do pastejo.....40
3.2.1.4 Medições no pasto e amostragem dos alimentos.....40
3.2.1.5 Pesagem e amostragem de leite.....42
3.2.1.6 Pesagem e escore de condição corporal dos animais.....42
3.2.1.7 Coleta de sangue.....42
3.2.1.8 Consumo de pasto: administração do marcador, coleta de fezes e digestibilidade dos alimentos.....43
3.2.1.9 Produção de proteína microbiana: coleta de urina.....43
3.2.1.10 Excreção de nitrogênio: coleta de fezes e urina.....44
3.2.2 Experimento 2: avaliação do desempenho animal.....44
3.2.2.1 Período experimental, animais, delineamento estatístico e tratamentos.....44
3.2.2.2 Manejo alimentar dos animais.....45
3.2.2.3 Manejo do pastejo, medições no pasto e amostragem dos alimentos.....45
3.2.2.4 Coleta de fluido ruminal.....46
3.2.2.5 Pesagem e escore de condição corporal dos animais.....46
3.2.2.6 Coleta de sangue.....47
3.2.2.7 Consumo de pasto: administração do marcador, coleta de fezes e digestibilidade dos alimentos.....47
3.2.2.8 Produção de proteína microbiana: coleta de urina.....47
3.2.2.9 Excreção de nitrogênio: coleta de fezes e urina.....48

3.2.3 Experimento 3: avaliação de cinética ruminal do capim 48
3.2.3.1 Período experimental, animais, delineamento estatístico e tratamentos ... 48
3.2.2.2 Manejo alimentar dos animais 48
3.2.2.3 Preparação das amostras e incubação *in situ* 49
3.3 Análises laboratoriais e cálculos 50
3.3.1 Composição bromatológica dos alimentos 50
3.3.2 Nitrogênio uréico no plasma 52
3.3.3 Consumo de pasto 52
3.3.4 Produção de proteína microbiana 53
3.3.5 Excreção de nitrogênio na urina e nas fezes 54
3.3.6 Eficiência de uso do nitrogênio dietético 55
3.3.7 Parâmetros ruminais 55
3.3.8 Degradação *in situ* do capim 55
3.4 Análises estatísticas 57
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 59
4.1 Experimento 1: avaliação de desempenho animal 59
4.1.1 Características estruturais do dossel forrageiro 59
4.1.2 Características nutricionais dos alimentos 61
4.1.3 Consumo e desempenho das vacas em lactação 67
4.1.4 Excreção de nitrogênio 79
4.1.5 Peso e escore de condição corporal 82
4.2 Experimento 2: avaliação do metabolismo animal 83
4.2.1 Características estruturais do dossel forrageiro 83
4.2.2 Características nutricionais dos alimentos 83
4.2.3 Parâmetros ruminais, produção de proteína microbiana e nitrogênio uréico no plasma 84
4.2.4 Consumo de matéria seca 88
4.2.5 Excreção de nitrogênio nas fezes e na urina 91
4.2.6 Ganho de peso e escore de condição corporal (ECC) 92
4.3 Experimento 3 92
5 CONCLUSÕES 99

RESUMO

Teor de proteína no concentrado de vacas em lactação mantidas em pastagem de capim elefante

As práticas de manejo das pastagens tropicais recomendadas para utilização intensiva da planta permitem ao animal colher material de boa qualidade. O objetivo do trabalho foi avaliar se a proteína bruta (PB) proveniente do capim seria suficiente para atender as exigências de vacas leiteiras no terço médio da lactação, tornando desnecessária a utilização de suplementos protéicos no concentrado. Buscou-se também a caracterização da PB do capim e a adequação protéica da dieta, visando otimizar a eficiência de utilização do nitrogênio. No primeiro estudo, 33 vacas holandesas e mestiças (HPBxJersey), no terço médio da lactação, produzindo em média 20 L dia^{-1}, foram agrupadas em 11 blocos, de acordo com composição racial, dias em lactação e produção de leite e receberam suplemento concentrado com três níveis de PB durante 76 dias. Os concentrados continham milho moído fino, minerais, vitaminas e os três níveis de proteína (T1: 8,7%; T2: 13,4%; T3: 18,1% MS) foram obtidos substituindo-se parte do milho por farelo de soja. O capim elefante foi adubado com 50 kg N ha^{-1} por pastejo e apresentou teor médio de PB de 18,5%. As produções de leite e de leite corrigido para 3,5% de gordura, os teores e produções de gordura, proteína e caseína no leite, a síntese de proteína microbiana e o consumo de matéria seca (CMS) não foram influenciados ($P>0,05$) pelos teores de PB dos concentrados. A concentração de nitrogênio uréico no leite aumentou linearmente ($P<0,01$) com o aumento dos teores de PB dos concentrados. A excreção de N pela urina foi maior ($P<0,05$) para os concentrados contendo farelo de soja (T2 e T3) em relação ao concentrado contendo apenas milho (T1). No segundo estudo, 4 vacas holandesas secas, fistuladas no rúmen, foram distribuídas em um quadrado latino 4x4 e submetidas aos mesmos tratamentos do primeiro estudo, acrescidos de um quarto concentrado (T4) com 13,4% de PB, tendo uréia como fonte de nitrogênio. O CMS foi maior para o T4 ($P<0,05$), sugerindo deficiência de PDR nos outros tratamentos. Entretanto, essa hipótese não foi confirmada pelos parâmetros ruminais (pH, e ácidos graxos de cadeia curta) e síntese microbiana, que não sofreram efeito dos teores e fontes de PB no concentrado. A concentração de N amoniacal no rúmen foi menor ($P<0.05$) para T1 do que para os demais tratamentos. A excreção total de N no ambiente acompanhou numericamente o teor de PB dos concentrados, mas as diferenças não foram detectadas pela análise estatística. O terceiro estudo utilizou os mesmos animais e tratamentos do segundo para avaliar a cinética de degradação ruminal da MS, PB e FDN do capim por meio de ensaio *in situ*. Os concentrados protéicos (T2, T3 e T4) não melhoraram a degradação ruminal do capim, em relação ao concentrado energético (T1), confirmando que a proteína do pasto foi suficiente para maximizar a fermentação ruminal. O fornecimento de farelo de soja no concentrado de vacas em terço médio de lactação, mantidas em pastagens tropicais manejadas intensivamente, não resultou em nenhum benefício produtivo e aumentou a excreção de N no ambiente.

Palavras-chave: Pastagens tropicais; Suplementação protéica; Metabolismo de nitrogênio; Cinética ruminal; Fracionamento protéico

ABSTRACT

Crude protein levels on the concentrate supplement of dairy cows grazing Elephant grass

Grazing management techniques are improving the quality of the forage consumed by grazing dairy cows. The objective of this study was to determine if forage crude protein (CP) would be sufficient to achieve the nutritional requirements of mid-lactating dairy cows, making unnecessary the use of protein supplements on the concentrate. It also aimed to characterize the forage CP fractions and to balance the diet protein content to optimize nitrogen use efficiency. In the first trial, 33 Holstein and crossbred (Holstein X Jersey) mid-lactating dairy cows, producing 20 L d^{-1}, were grouped in 11 blocks, according to breed, days in milk and milk yield and were fed three levels of CP on the concentrate supplement for 76 days. Concentrates contained fine ground corn, minerals, vitamins and three CP levels (T1:8.7, T2:13.4 and T3:18.1% DM) that were achieved by replacing corn with soybean meal. Pasture was fertilized with 50 kg N ha^{-1} after each grazing cycle and averaged 18.5% CP. There was no difference ($P>0.05$) in milk yield, fat corrected milk, fat, protein and casein content and yield, microbial synthesis and dry matter (DM) intake among treatments. Milk urea nitrogen increased linearly ($P<0.01$) as the concentrate CP content increased. The N urine excretion was greater ($P<0.05$) with the soybean meal concentrates (T2 and T3) than with the corn concentrate (T1). In the second trial, 4 rumen cannulated Holstein dry cows were used in a 4x4 Latin square and assigned to the same treatments used in the first study plus a fourth concentrate (T4) with 13,4% CP, containing urea instead of soybean meal as the N source. Dry matter intake was greater for T4 ($P<0.05$), suggesting a PDR deficiency in the other treatments. However, this hypothesis was not confirmed by ruminal parameters (pH and short chain fatty acids concentration) neither by microbial synthesis, that were not affected by the levels or sources of CP on the concentrate. Ruminal ammonia N content numerically increased as the concentrate CP content increased, but no differences were detected by the statistic analysis. The third study used the same animals and treatments of the second study to evaluate the ruminal kinetics of DM, CP and NDF of Elephant grass by an *in situ* assay. Protein concentrates (T2, T3 and T4) didn't improve forage ruminal degradation in relation to the energy concentrate (T1), confirming that the forage protein content was sufficient to optimize ruminal fermentation. The inclusion of soybean meal in the concentrate of mid-lactating dairy cows grazing intensively managed tropical grasses didn't result in productive advantage and increased the N excretion to the environment.

Keywords: Tropical pastures; Protein supplementation; Nitrogen metabolism; Ruminal kinetic; Protein fractions

1 INTRODUÇÃO

O leite brasileiro vem ganhando importância no mercado nacional e internacional nos últimos anos. Apesar de ainda instável, a balança comercial de lácteos apresentou superávit em 2007 e 2008. Além disso, o preço do leite no mercado interno tem atingido patamares elevados em relação à média histórica em vários meses dos anos recentes. Este cenário, aliado às pressões da agricultura intensiva praticada no país, elevação dos preços da terra e dos insumos, e das questões ambientais, têm ao mesmo tempo incentivado e pressionado os produtores a investirem na intensificação de seus sistemas de produção em busca de competitividade, sustentabilidade e consolidação no setor.

A intensificação do sistema de produção baseado em pastagens envolve, principalmente, o manejo da planta forrageira, a utilização de animais com potencial genético elevado e a adequação das práticas de manejo desses animais, com atenção especial à alimentação, conforto e sanidade. Neste contexto, a nutrição protéica de vacas leiteiras tem grande importância em virtude de sua influência direta na produção de leite, na reprodução animal e no custo da alimentação. Além disso, se torna cada vez mais constante a preocupação com excreção de elementos que possam provocar poluição ambiental, como é o caso do nitrogênio oferecido em excesso aos animais.

Nas poucas informações disponíveis nas tabelas do NRC (1996; 2001), na biblioteca tropical do CNCPS (TEDESCHI et al., 2002) e em diversos trabalhos revisados por Santos et al. (2007) sobre composição de plantas forrageiras tropicais, estas geralmente apresentam baixos teores de proteína bruta PB, sendo essa proteína de alta degradabilidade. No entanto, teor baixo de PB não é característica intrínseca da planta forrageira tropical, mas sim resultado de colheita de material em estágio avançado de crescimento, combinado com ausência de adubação nitrogenada, situação muito comum nas explorações extrativistas de pastagens tradicionalmente encontradas no Brasil (SANTOS et al., 2007).

Quando pastagens tropicais são manejadas com o objetivo de suportarem altas taxas de lotação, da ordem de 6 a 10 vacas ha^{-1} durante o período das águas, doses elevadas de adubação nitrogenada são necessárias. Adubações da ordem de 200 a 500 kg ano^{-1} de N e colheita da forragem no ponto fisiológico ideal (95% de interceptação de luz) permitem ao animal consumir forragem de alta qualidade, com

teores de PB ao redor de 15 a 21% da matéria seca (MARTINEZ, 2008; COSTA, 2007; CARARETO, 2007; RAMALHO, 2006).

Da mesma forma, a degradabilidade ruminal da proteína pode ser afetada pela idade da planta (CABRAL et al., 2000), por práticas de manejo, como adubação (JOHNSON et al., 2001) e intervalo entre pastejos (VENDRAMINI et al., 2008) e pelo método de amostragem da planta analisada (planta inteira ou estrato pastejável). Valores de degradabilidade ruminal da ordem de 85% são apresentados nas tabelas do NRC (1996) para feno de Tifton 85, e de 84% e 81% para amostras de plantas frescas de capim Pangola e capim Napier, respectivamente, cortadas ao nível do solo. De acordo com o NRC(2001), feno de capim bermuda aepresenta 51,7% da proteína bruta como fração B, com taxa de degradação de 8,1% h^{-1}.

Entretanto, dados recentes indicam maior proporção da fração B (MARTINEZ, 2008; ROMERO, 2008), especialmente das frações protéicas B2 e B3, de média e baixa degradabilidade, na proteína de pastagens de capim elefante manejadas intensivamente (ROMERO, 2008). As taxas de degradação da fração B relatadas por Martinez (2008) e por Romero (2008) para amostras do estrato pastejável de pastagens de capim elefante bem manejadas e fertilizadas com doses altas de N foram inferiores a $6\% \cdot h^{-1}$ e a degradabilidade efetiva da PB ficou entre 55 e 75%.

Para plantas forrageiras com essas características, simulações feitas tanto no NRC (2001) quanto no CNCPS (v. 5.0) indicam a necessidade de suplementação apenas energética para vacas produzindo ao redor de 20 kg de leite dia^{-1}. De acordo com os programas, já ocorre excesso de suprimento de proteína metabolizável para vacas leiteiras recebendo apenas milho ou outras fontes energéticas como suplemento.

A literatura é carente em dados relativos à adequação protéica de dietas para vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais manejadas intensivamente. Da mesma forma, são escassos os trabalhos envolvendo degradabilidade da proteína bruta de amostras do estrato pastejável de pastagens tropicais bem manejadas e fertilizadas com doses altas de N. O fornecimento excessivo de proteína no concentrado, além de aumentar o custo da alimentação, aumenta a exigência em energia necessária para excreção do nitrogênio, tornando os animais menos eficientes no uso do nitrogênio

dietético. Além dos aspectos de produção, aumentam os problemas resultantes da excreção de doses excessivas de N para o ambiente.

Sendo assim, é essencial avaliar na prática o que as simulações teóricas têm mostrado em relação ao aporte de proteína metabolizável em vacas leiteiras consumindo pastagens tropicais em sistema intensivo, incluindo dados da degradabilidade da proteína bruta do capim.

A hipótese deste trabalho é que vacas produzindo ao redor de 20 kg de leite por dia, mantidas em pastagens manejadas com adubações nitrogenadas elevadas e colhidas no ponto adequado, têm suas exigências protéicas atendidas pela proteína do capim e, assim, não respondem à suplementação com concentrados ricos em proteína bruta proveniente do farelo de soja, em comparação à suplementação energética.

Portanto, o objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito de concentrados com teores crescentes de proteína bruta sobre: 1) produção e composição de leite; 2) consumo de matéria seca; 3) nitrogênio uréico no plasma; 4) parâmetros ruminais; 5) degradação *in situ* da pastagem; 6) produção de proteína microbiana; 7) eficiência de utilização do nitrogênio e 8) peso e condição corporal dos animais; 9) excreção de nitrogênio no ambiente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A produção animal em pastagens, apesar de prática tradicional no cenário agrícola brasileiro, vem passando por modificações filosóficas e operacionais, decorrentes do surgimento de novas informações e da crescente demanda por sistemas de produção sustentáveis, com menor impacto negativo ao meio ambiente e maior competitividade no mercado. Cresce também a demanda entre os consumidores por alimentos mais adequados à saúde humana, com propriedades funcionais que tragam benefícios além do tradicional valor nutricional (IFIC, 2008).

Os alimentos produzidos em pastagens têm condições de atender a todos esses requisitos e alguns países, como Nova Zelândia e Austrália, que exploram pastagens como base de seus produtos de origem animal, já adotam a imagem do alimento natural e ambientalmente correto em suas campanhas de marketing mundial. O Brasil apresenta grande potencial para se destacar como concorrente no mercado mundial de produtos lácteos e cárneos, se conseguir explorar de forma adequada seus 200 milhões de ha de pastagens, distribuídas por todo território nacional, com possibilidades de produção de forragem durante a maior parte do ano.

A conscientização desse potencial poderia ter forte impacto no setor leiteiro brasileiro, uma vez que a maior parte das 1.340.897 propriedades destinadas à produção de leite no país exploram sistemas de pastagens (IBGE, 2006; FNP, 2010). A profissionalização com visão de longo prazo é necessária para que o produtor se torne competitivo no setor agropecuário, cada vez mais intensificado. A passos lentos, o setor leiteiro vem ganhando importância no cenário econômico nacional, à medida que o país começa a se inserir no mercado internacional. Até que isso se torne uma realidade consistente, os envolvidos na atividade deveriam investir no aprofundamento do conhecimento das variáveis que atuam sobre o sistema de produção de leite em pastagens, entendendo como elas se inter-relacionam e, dessa forma, saber como atuar para explorar todo potencial existente.

2.1 Exploração das plantas forrageiras tropicais para produção de leite

As forrageiras tropicais apresentam alto potencial de produção de matéria seca (CORSI, 2001; CAMARGO, 1996), o que contribui também para redução do custo de

produção desse volumoso. As plantas tropicais apresentam ciclo fotossintético C4, o que as torna mais eficientes na conversão de energia luminosa em tecido vegetal. Além disso, com práticas agronômicas adequadas, como adubação e irrigação, as gramíneas tropicais podem atingir produções da ordem de 80 toneladas de matéria seca por ano.

A elevada biomassa produzida exige uma estrutura de sustentação mais desenvolvida nessas plantas do que, por exemplo, ocorre nas plantas de clima temperado, que apresentam menores produções por área. Com isso, o conteúdo fibroso das plantas tropicais é mais elevado (WILSON, 1997), e essa elevação ocorre em detrimento de conteúdo celular e de seus nutrientes mais digestíveis (BALSALOBRE, 2002). Essa característica, aliada ao manejo inadequado da utilização, tradicionalmente aplicado em sistemas que utilizam pastagens tropicais, tem contribuído para a formação de um conceito incorreto de que plantas forrageiras tropicais apresentam baixo valor nutritivo (SANTOS et al., 2007).

Entretanto, com a evolução dos estudos sobre ecofisiologia de plantas forrageiras tropicais, que disponibilizam estratégias para colheita da planta no ponto fisiológico considerado ideal, e com adubação adequada, as forrageiras tropicais se apresentam como volumoso de alto valor nutritivo, muito próximos, inclusive, ao das plantas temperadas. A tabela 1 apresenta valores de proteína (PB), fibra (FDN) e energia (NDT) de plantas tropicais bem manejadas, obtidos em trabalhos de pesquisa e propriedades comerciais nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Esse valor nutritivo, aliado às elevadas massas de forragem produzidas pelas forrageiras tropicais, evidenciam o potencial de produção e de rentabilidade dos sistemas de produção em pastagens.

Tabela 1 – Composição química de amostras de pastejo simulado de forrageiras tropicais em trabalhos de pesquisa e propriedades comerciais

Forragem	PB, %	FDN, %	NDT, %	Referência/Local
B. brizantha cv. Marandu	12,6	57,4	-	CORREIA, 2006
B. brizantha cv. Marandu	13,6	56,2	-	CORREIA, 2006
B. brizantha cv. Marandu	15,3	65,0	-	COSTA, 2007
P. maximum cv. Colonião	16,3	66,0	-	RAMALHO, 2006
P. purpureum cv. Cameroon	14,6	65,1	-	VOLTOLINI, 2006
P. purpureum cv. Cameroon	20,6	63,2	-	CARARETO, 2007
P. purpureum cv. Cameroon	13,7	62,9	-	MARTINEZ, 2004
P. purpureum cv. Napier	20,6	64,7	-	FONTANELLI, 2005
Quicuio	21,4	66,4	-	FONTANELLI, 2005
Tifton – 68	22,1	65,5	-	FONTANELLI, 2005
P. purpureum cv. Cameroon	17,0	63,1	-	ROMERO, 2008
P. purpureum cv. Cameroon	17,0	61,9	-	MARINEZ, 2008
Tifton-85	18,9	-	63,9	MG
Tangola	17,9	-	62,4	MG
Setária	17,5	-	60,3	MG
Tanzânia	18,2	-	61,2	SP
Elefante	13,7	-	60,2	SP
Tifton-68	14,3	-	64,9	RS

Fonte: Adaptado de Santos et al. (2003) e Martinez (2004)

O incremento na qualidade da forragem, resultante de práticas de manejo do pastejo e adubação, pode gerar resultados financeiros significativos em um sistema de produção. Em simulação realizada por Pedroso e Danés (2008) para detectar o efeito do valor nutritivo da forragem no lucro da atividade, a utilização de pasto de bom valor nutritivo (59,5% NDT, 50% FDN, 12% PB) permitiu economia de R$ 23.208,89 por ano em um rebanho de 100 vacas, em comparação com o pasto de baixo valor nutritivo (55% NDT, 65% FDN, 9% PB).

Em rebanhos mantidos em pastagens, pensar apenas no valor nutritivo da forragem não é suficiente para garantir bom desempenho. Para que as vacas possam expressar todo o seu potencial, é preciso que a oferta de forragem (OF) seja suficiente (PEYRAUD et al., 1996). O aumento na OF propicia aumento no consumo de matéria seca (CMS) da forragem e evidencia uma característica de consumo muito importante,

que é a capacidade do animal em selecionar materiais de melhor qualidade em relação à média da pastagem. Estudos de morfologia da planta no pré e pós pastejo demonstraram que os animais apresentam uma clara preferência por folhas verdes em detrimento de talos e/ou material já senescente (MARTINEZ, 2004; VOLTOLINI, 2006; CARARETO, 2007).

Nesse contexto é importante enfatizar que as características estruturais do pasto têm efeito direto sobre o CMS, uma vez que afetam a facilidade de colheita da forragem pelo animal. A altura, densidade de folhas, relação folha/caule, proporção de material morto, interferem com o consumo, pois alteraram o tamanho dos bocados, a taxa de bocados e o tempo de pastejo (SARMENTO, 2003). Sendo assim, o manejo do pastejo, com base em metas de pasto, como altura, índice de área foliar e interpretação luminosa, é uma ferramenta fundamental para o máximo aproveitamento da forragem produzida (DA SILVA; NASCIMENTO JR, 2007).

Com objetivo de entender o efeito da composição da planta forrageira tropical na produção e composição de leite foi realizada uma revisão na literatura dos últimos 10 anos. Foram levantados 22 trabalhos que possibilitaram 56 comparações de dados. O enfoque da revisão não foi avaliar os tratamentos testados em cada trabalho e as respostas obtidas, mas sim criar um banco de dados com informações de produção e composição do leite e características da planta forrageira utilizada. Os principais parâmetros extraídos dos trabalhos, bem como seus valores médios, máximos e mínimos, estão apresentados na tabela 2.

As referências utilizadas na revisão foram: Aguilar-Pérez et al. (2007), Bonaparte et al. (2007), Carareto (2008), Danés (2010), Deresz (2001), Deresz et al. (2001), Fike et al. (2002), Fontaneli (2005), Fukumoto (2007), Granzin et al. (2002), Greco (2008), Maixner et al. (2009), MARTINEZ (2008), Martinez (2004), Pereira et al. (2009), Porto et al. (2009), Razz et al. (2007), Sanh et al. (2001), Silva et al. (2009), Vilela et al. (2002), Voltolini (2006).

Tabela 2 – Principais parâmetros obtidos em revisão de 21 trabalhos sobre produção de leite em pastagens tropicais

Parâmetro	Valor médio (mín – max)
Produção, Kg d^{-1}	14,00 (5,5 a 22,4)
Gordura, %	3,50 (2,25 a 4,19)
Proteína, %	3,09 (2,54 a 4,09)
Lactose, %	4,37 (3,90 a 5,60)
Dose média concentrado, kg	3,12 (0,0 a 7,0)
FDN do pasto, %MS	67,01 (56,6 a 80,8)
PB do pasto, %MS	15,0 (9,4 a 22,4)

Apesar da heterogeneidade do banco de dados, decorrente de trabalhos com diferentes raças, espécies forrageiras, composição dos suplementos e manejos do pastejo, que fez com que os coeficientes de determinação ficassem baixos, foi possível observar alguns comportamentos interessantes.

A produção de leite foi positivamente relacionada com o consumo de concentrado (r^2 = 32,43%), apesar da grande dispersão dos dados (figura 1).

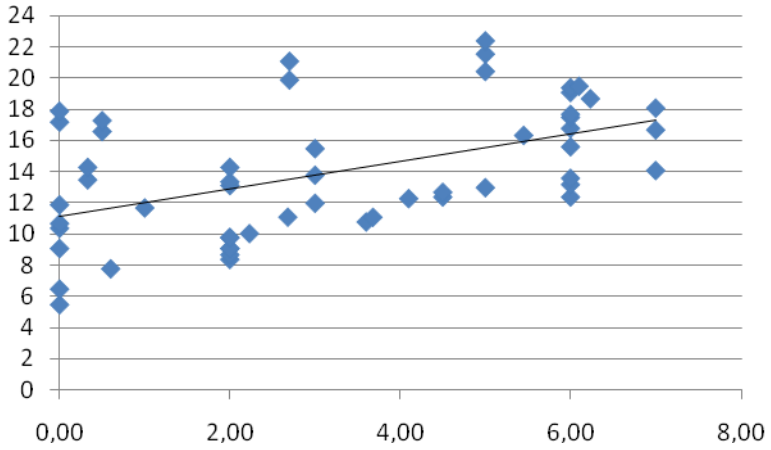

Figura 1 – Efeito da dose diária de concentrado sobre a produção de leite

Essa relação era esperada, uma vez que a suplementação concentrada, de modo geral, provoca respostas em produção de leite da ordem de 1 a 1,6 kg de leite por kg de suplemento fornecido, e esse valor é dependente do valor nutritivo da forragem, da composição do concentrado, do potencial genético das vacas e da duração do experimento no qual os dados foram obtidos (SANTOS et al., 2003). No entanto, o interessante desta análise é que apenas 32% da variação em produção de leite foram

explicados pelas doses diárias de concentrado oferecidas ao animal. Os outros 68% são decorrentes de diversos fatores e o objetivo desta análise é quantificar o valor nutritivo da forragem neste efeito.

O teor de PB do capim apresentou correlação positiva e significativa (r = 64%, P < 0,01) com a produção de leite, com coeficiente de determinação de 40%, maior do que o observado para dose de concentrado. A observação deste resultado deve ser feita com cautela, pois pode haver confundimento das interferências, uma vez que os mesmos fatores que levam ao aumento do teor de PB do capim (adubação, correto manejo do pastejo, por exemplo), provavelmente levam também ao aumento da produção de leite. Neste caso, as respostas não são exclusivamente decorrentes da elevação do teor de PB do pasto, mas sim conseqüência de alguns dos mesmos fatores que provocaram essa elevação, como o aumento do consumo individual de forragem devido ao melhor manejo do pastejo.

O mesmo raciocínio vale para o teor de FDN da forragem. Apesar da correlação negativa (P < 0,05) entre essa variável e a produção de leite (r = -31, 76%), não se deve concluir que a queda no teor de FDN é a única responsável pelo aumento na produção de leite. Quando o efeito dos dois fatores, PB e FDN, foi avaliado conjuntamente, por meio de regressão múltipla, o coeficiente de determinação foi de 45,2%. Esse valor é expressivo, principalmente por se tratar de uma variável (produção de leite) que sofre influência de tantos fatores. Em termos relativos, a composição da forragem respondeu por fração maior da variação em produção de leite do que as doses de concentrado.

Os teores de gordura e proteína no leite não apresentaram correlação significativa com nenhum dos parâmetros avaliados (dose de concentrado, %PB e %FDN do pasto). Por outro lado, as produções de gordura e proteína do leite foram positivamente correlacionadas (P < 0,01) com a dose diária de concentrado, como mostra a figura 2. Esse comportamento também era esperado uma vez que a oferta de concentrado permite o aumento da ingestão de energia metabolizável que, por sua vez, aumenta a produção de precursores (ácidos graxos de cadeia curta e proteína microbiana) para a síntese de sólidos no leite.

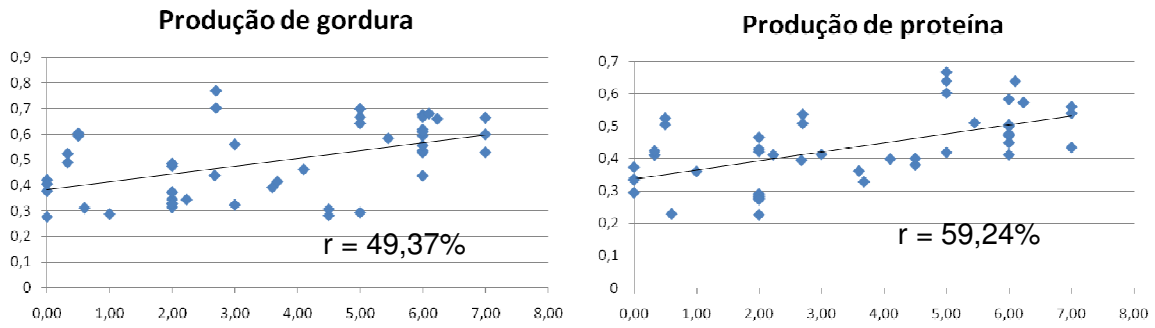

Figura 2 – Efeito da dose diária de concentrado com a produção de gordura (esquerda) e proteína (direita)

O efeito da composição da forragem (PB + FDN) nas produções de gordura e proteína do leite também foi avaliada por meio da regressão múltipla e ambos os modelos foram significativos ($P < 0,01$), com coeficientes de determinação de 46,33% para gordura e 41,29% para proteína.

A análise desse banco de dados, apesar de não permitir conclusões sobre o efeito específico de PB e FDN na produção de leite, gordura e proteína, demonstra claramente a importância do valor nutritivo do capim sobre essas variáveis, que são determinantes para a rentabilidade do sistema de produção.

2.2 Limitações nutricionais na produção de leite em pastagens tropicais

A elevada produção de forragem de bom valor nutritivo por área e os reduzidos custos de produção possibilitam rentabilidade adequada para os sistemas de produção em pastagens tropicais, que os permite atuar de forma competitiva no mercado. Entretanto, a utilização de pastagens como único alimento apresenta limitações de ordem nutricional que restringem a lucratividade do sistema.

Apesar da composição química adequada das plantas forrageiras tropicais apresentadas na tabela 1, seu baixo teor de matéria seca impede que os animais consumam a quantidade necessária de forragem para atender as exigências de altos desempenhos produtivos. Por isso, a utilização do pasto como única fonte de alimento limita o desempenho individual dos animais (MULLER; FALES, 1998).

Trabalhos de pesquisa e simulações visando identificar o potencial de produção de leite em sistemas exclusivos de pastagens têm demonstrado resultados muito aquém do potencial genético dos animais utilizados em sistemas intensivos de

produção. Produções médias de 9,10 kg de leite dia^{-1}, com uma variação de 5,0 a 13,7 kg de leite (SANTOS et al., 2003), têm sido observadas, valores inferiores aos potencialmente atingíveis com animais especializados.

Além da dificuldade de ingestão de maiores quantidades de volumoso, os animais consumindo apenas pastagens tropicais enfrentam balanço inadequado de nutrientes do rúmen. Como foi demonstrado na tabela 1, plantas tropicais bem adubadas e bem manejadas apresentam altos teores de proteína bruta e também maior produção de massa de forragem. Isso exige maior investimento em parede celular em detrimento do conteúdo celular, acarretando no decréscimo do teor energético dessa planta. Com isso, ocorre limitação energética rúmen para utilizar toda essa proteína disponível, gerando baixa produção de proteína microbiana, principal fonte de proteína metabolizável de ruminantes mantidos em pastagens (NRC, 1989).

A sincronia entre energia e proteína dentro do rúmen de animais mantidos exclusivamente em pastagens foi tema de estudo para Poppi e McLennan (1995), que concluíram que perdas e/ou transferência incompleta de proteína ocorrem quando o conteúdo de proteína bruta da forragem excede 210 g de proteína bruta por kg de matéria orgânica digestível (Tabela 3).

Tabela 3 – Teores de proteína bruta (PB) acima dos quais ocorrerão perdas de nitrogênio, de acordo com o teor de matéria orgânica digestível da planta (DIG MO)

DIG MO (%)[1]	**PB (%)**[2]
80	15,1
70	13,2
60	11,3
50	9,4

[1] Assumindo 900g MO kg^{-1} de MS
[2] Calculada como sendo 210 g PB kg^{-1} MOd x DIG MO x 0,9 (900g MO kg^{-1} MS). Por exemplo, na primeira linha: 210 x 0,8 x 0,9 = 151 g PB kg^{-1} MS (15,1%PB)
Fonte: Poppi e McLennan, 1995.

Em termos práticos, isso significa dizer que um animal consumindo forragem com 60% de digestibilidade da matéria orgânica, consegue aproveitar no máximo 11,3% de proteína bruta desse alimento. Se a forragem apresentar teor maior que esse,

haverá excesso de nitrogênio, que precisará ser excretado. Essa situação é comumente encontrada em pastagens de plantas tropicais, evidenciando o fato de que ocorre um desbalanço de nutrientes.

Trabalhos recentemente realizados no Departamento de Zootecnia da Esalq/USP (VOLTOLINI et al., 2010; CARARETO, 2007; CORREIA, 2007; COSTA, 2007; MARTINEZ, 2008; ROMERO, 2008; PACHECO JR, 2008) utilizaram plantas forrageiras tropicais adubadas com doses médias a altas de nitrogênio, manejadas sob pastejo rotacionado com alturas de entrada que representavam 95% de interceptação luminosa. A análise química das forrageiras utilizadas apresentou valores médios de 61% de digestibilidade da MO e 15,7% de proteína bruta, o que demonstra o desbalanço de nutrientes nessas plantas.

Simulações realizadas por programas de formulação de dietas, quando alimentados com dados reais de forragens tropicais, também podem ser utilizadas para demonstrar a falta de sincronia da digestibilidade ruminal de energia e proteína em animais consumindo pastagens. De acordo com o NRC (2001), por exemplo, o consumo exclusivo de 12 kg de MS de pasto tropical (63,3% de NDT) gerou energia líquida para produções de 10 a 11 kg de leite (3,8% de gordura e 3,2% de proteína bruta), porém gerou proteína metabolizável para produções de 12 a 15 kg de leite, com variação nos teores de PB de 14 a 20% respectivamente. A suplementação com 6,1 kg de milho para vacas mantidas em pastagens com 18% de PB resultou em produção teórica de 23,6 kg de leite.

Diversos trabalhos de pesquisa já foram conduzidos no intuito de determinar o nutriente mais limitante em sistemas de produção de leite em pastagens. No estudo de Fontaneli (2005), com capim Elefante, Quicuio e Tifton 68, contendo entre 20,6 e 22,1% de PB, as vacas produziram entre 20,4 e 26,72 kg de leite dia^{-1}, quando suplementadas diariamente com 5,5 a 7,2 kg de concentrado. O concentrado continha apenas milho moído e mistura mineral, conforme recomendado pelo NRC (2001). Produções individuais de até 43,4 kg de leite/dia foram relatadas pelo autor.

Vacas mantidas em pastagens de capim elefante com apenas 12% de PB na MS, com produções diárias ao redor de 18,5 kg de leite, não responderam a teores de PB na matéria natural do concentrado superiores a 15,8% (VOLTOLINI et al., 2010),

A proteína não degradável no rúmen (PNDR) também já foi alvo de estudos e comparações com outros nutrientes para avaliação de limitações nutricionais em sistemas de pastagens. Vacas produzindo entre 17 e 23 kg dia^{-1} não responderam ao aumento de PNDR, proveniente do farelo de canola tratado com formoldeído, na dieta, enquanto aumentos em produção de leite foram observados em resposta ao maior suprimento de energia metabolizável (doses crescentes de concentrado) (REEVES et al.,1996). Quando comparada a proteína degradável no rúmen (PDR), a PNDR também não provocou aumentos de produção de leite em vacas mantidas em pastagens temperadas produzindo ao redor de 35 kg dia^{-1}(HONGERHOLT; MULLER, 1998). A simulação feita pelos autores usando o modelo dinâmico de Cornell (CNCPS) mostrou que o principal nutriente limitante para o desempenho das vacas ainda era energia metabolizável e não PNDR.

Portanto, seja para gramíneas temperadas (MULLER; FALLES, 1998) como para tropicais bem manejadas (DAVISON; ELLIOTT, 1993; DAVISON et al., 1982; SANTOS et al., 2005), a ingestão de energia metabolizável constituiu-se a maior limitação para vacas leiteiras mantidas em pastagens.

Apesar dos altos teores de PB observados em plantas forrageiras tropicais manejadas intensivamente, pouco se conhece a respeito do fracionamento dessa proteína, ou seja, de como ela está distribuída dentro da planta.

Nos sistemas protéicos atuais, a proteína bruta é dividida em 3, segundo o NRC (2001), ou 5, segundo o CNCPS (SNIFFEN et al., 1992), frações. A fração solúvel, prontamente disponível aos microorganismos ruminais, é classificada como fração A no NRC e é subdividida em duas frações no CNPS, A para o nitrogênio não protéico e B1 para proteína verdadeira solúvel. As frações B do NRC e B2+B3 do CNCPS representam a proteína verdadeira potencialmente degradável. A subdivisão feita pelo CNCPS leva em conta a velocidade de degradação da fração no rúmen, sendo a B2 de média e a B3 de lenta degradação. Por fim, a fração C, tanto no NRC quanto no CNCPS, representa a porção da proteína indisponível ao animal.

Trabalhos de caracterização do fracionamento protéico de plantas tropicais, bem como de avaliação do efeito de práticas de manejo da planta nessa distribuição são escassos na literatura. Dentre os trabalhos disponíveis (ROMERO, 2008; LACERDA et

al., 2004; JOHNSON et al., 2001; ROGERS et al., 1996; CABRAL et al., 2000; VENDRAMINI et al., 2008; VIEIRA et al., 1997; ASSIS et al., 1999), observa-se variabilidade muito grande de protocolos experimentais, método de amostragem da planta e cálculo dos parâmetros. Dessa forma, ainda é difícil tirar conclusões e fazer inferências sobre o comportamento do fracionamento protéico sob diferentes manejos.

A caracterização detalhada e representativa da forragem é essencial para que as predições de desempenho com base nas dietas sejam melhoradas a dieta possa ser mais bem adequada às exigências dos animais.

2.4 Adequação protéica de dieta para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais

A proteína é um nutriente de alto impacto do desempenho produtivo dos animais. Análises de regressão multivariada (NRC, 2001), a produção de leite aumentou 0,75 kg dia^{-1} quando a PB da dieta passou de 15% para 16% e 0,35 kg dia^{-1} quando a PB da dieta passou de 19% para 20%. A produção de leite máxima foi atingida com 23% de PB na dieta (NRC, 2001).

Resultados similares foram reportados por Ipharraguerre e Clark (2005), utilizando banco de dados ainda maior (112 estudos publicados de 1981 a 2003). Os autores estimaram aumentos em produção de leite da ordem de 0,94 e 0,42 kg dia-1 quando a PB da dieta passou de 15% para 16% e de 19% para 20%, respectivamente. A máxima produção de leite neste estudo foi obtida em dietas com 22,8% PB.

Por outro lado, Imaizumi et al. (2010) revisou 13 estudos sobre quantidade de proteína na dieta de vacas em lactação, publicados de 2005 a 2009, e relataram que a produção de leite foi aumentada consistentemente quando os teores de PB da dieta abaixo de 15% foram elevados para 15-17%. Em 7 dos 13 estudos, as vacas produziram entre 36,3 e 43,3 kg dia^{-1}. Para essas vacas de alta produção, o aumento de PB na dieta, de 16,2-17,2% para 20% não provocou respostas em produção nos 7 trabalhos e não aumentou o consumo de matéria seca (CMS) em 5 dos 7. Não foi observado aumento em produção de proteína do leite em 6 dos 7 trabalhos, mas o nitrogênio uréico no leite foi elevado nos 7 estudos e a eficiência de uso do N (EUN) foi reduzida em 6 estudos.

Apesar disso, produtores de leite geralmente oferecem dietas com alto teor de PB para suas vacas no intuito de garantir o aporte de proteína metabolizável necessário para máxima produção de leite e proteína. Em levantamento realizado no estado de Wisconsin, nos EUA, com 6 rebanhos confinados de produção média de 14.000 kg, foi relatado teor médio de PB da dieta de 19,1%, variando entre 18,0 e 21,5% (OLMOS COLMENERO; BRODERICK, 2006). Da mesma forma, de 40 propriedades de produção de leite em pastagens avaliadas nos estados de Louisiana e Mississipi, também nos EUA, 75% delas ofereciam suplementos concentrados com mais de 18% PB (McCORMICK et al., 2001). Dados de 13 fazendas no nordeste dos EUA reportaram que todas as propriedades estavam superestimando o consumo de proteína de seus animais em 18-80% em relação às recomendações do NRC (2001) (SODER; MULLER, 2007). Comercialmente no Brasil, os concentrados fornecidos para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais variam de 16 a 24% de PB na matéria natural.

A proteína oferecida em excesso na dieta é convertida em amônia, absorvida para a corrente sanguínea, transformada em uréia no fígado e excretada pela urina ou reciclada para o trato digestivo superior. Na urina, a uréia é rapidamente hidrolisada para amônia e volatilizada para o ambiente, podendo acarretar problemas ambientais. Além disso, o excesso de PB na dieta reduz a margem de lucro da propriedade, em virtude do alto custo relativo dos suplementos protéicos e da reduzida eficiência de utilização do nitrogênio em dietas com alto teor de PB (BRODERICK, 2003).

O aumento na concentração de N amoniacal em vacas mantidas em pastagens tem sido relacionado com alterações do padrão de comportamento ingestivo (Emmick, 2007). Diferentes concentrações de amônia ruminal durante um evento de alimentação têm sido apontadas como possível sinalizador complementar para a finalização da refeição (CHILIBROSTE et al., 2000; GREGORINI et al., 2008). O comportamento seletivo do animal foi relacionado com o teor de PB do pasto e, conseqüentemente, à concentração de amônia ruminal. Emmick (2007) reportou preferência por gramíneas em animais consumindo concentrado com alto teor de PB (16 a 21%), enquanto os que receberam concentrado com 11% PB demonstraram preferência por leguminosas. Os resultados desses estudos devem ser analisados com cautela, uma vez que o

mecanismos envolvidos nessas relações de causa e efeito ainda não foram completamente elucidados.

Além da excreção de N no ambiente e do aumento no custo da alimentação, o excesso de PB da dieta torna os animais menos eficientes no uso dos nutrientes, uma vez que parte da energia que deveria ser utilizada para produção de leite é dispensada para excreção de N. Para cada grama de N excretado, são gastas 13,3 kcal de energia digestível (BRODERICK, 2003).

Portanto, fica clara a importância do correto balanceamento de N na dieta para otimizar a EUN e minimizar desperdícios de nitrogênio e dinheiro na propriedade. Entretanto, a dinâmica de N no organismo animal é complexa, por envolver fatores ainda pouco estudados, como secreção de N endógeno e reciclagem interna de N.

Dessa forma, pouco progresso tem sido conseguido no aumento da eficiência de uso do N. Stone et al. (1960) relataram EUN média de 23,7% no rebanho leiteiro norte-americano. Quarenta e oito anos mais tarde, Huhtanen e Hristov (2009), em metanálise sobre o efeito do teor e degradabilidade da PB no desempenho de vacas leiteiras, observaram valores médios de EUN de 24%.

Para vacas mantidas em pastagens, as dificuldades são ainda maiores, pois poucas são as informações que caracterizam a PB da planta forrageira tropical. Além disso, os dados de consumo de pasto são menos precisos do que os de animais confinados, dada a dificuldade de mensuração dessa variável.

Ao contrário do que normalmente é mencionado na literatura de plantas tropicais, dados recentes (ROMERO, 2008) de fracionamento da proteína de amostras do extrato pastejável de pastagens de capim elefante, manejadas com doses altas de adubação nitrogenada e com intervalo entre pastejos determinados pela interceptação de luz (IL) de 95%, indicam que a degradabilidade dessa proteína não é alta, uma vez que existem proporção elevada das frações protéicas B2 e B3 na planta.

Mulligan et al. (2004), utilizaram vacas de alta produção em pastagens e observaram que suplementos com baixa concentração protéica foram mais eficientes na utilização do N dietético, diminuindo sua excreção no ambiente, sem alterar a produção de leite. Voltolini et al. (2010) avaliou três doses de PB no concentrado de

vacas mantidas em pastagens de capim elefante com 12% PB e não observou respostas a teores maiores de 15,8% da matéria natural no concentrado.

Van Der Grinten et al. (1992) avaliaram a suplementação protéica em quatro sistemas de produção baseados em pastagens tropicais com a utilização de concentrados, e observaram que em todos os sistemas, as dietas apresentavam excesso de PB. Isto provavelmente vem ocorrendo em grande número de sistemas de produção de leite no Brasil que utilizam pastagens tropicais adubadas com doses altas de N e vacas com produções médias entre 12 a 20 kg/dia.

O uso de fontes protéicas de baixa degradabilidade ruminal para vacas em início de lactação com alta produção de leite, quando mantidas em pastagens tropicais com teores altos de PB é assunto ainda pouco estudado (SANTOS et al., 2005).

O monitoramento de valores de N-uréico no leite (NUL) é uma das ferramentas que permitem avaliar a adequação protéica da dieta consumida pelas vacas. O nitrogênio em excesso é transformado em uréia no fígado e carregado pela corrente sanguínea até os rins, onde é excretado pela urina ou reciclado via parede ruminal e saliva. Por ser uma molécula pequena, rapidamente passa para a glândula mamária drenada pela corrente sanguínea (GUSTAFSSON; PALMQUIST, 1993), fazendo com que maiores teores de NUL sejam indicativos de excesso de nitrogênio dietético, ou utilização ineficiente desse nutriente (BRODERICK, HUHTANEN, 2007).

Dessa forma, o NUL tem sido utilizado como ferramenta para monitorar o status protéico da dieta, bem como sua adequação da relação energia:proteína (BRODERICK; CLAYTON; 1997, GARCIA et al., 1997; HOF et al., 1997) e eficiência de uso do N (JONKER et al., 1998). O NUL apresenta elevada correlação com a concentração de nitrogênio na urina (BRODERICK; HUHTANEN, 2007; JONKER et al., 1988) e, portanto, também tem sido utilizado para estimativas de excreção de nitrogênio no ambiente (HRISTOV; HUHTANEN, 2007; MULLIGAN et al., 2004; KAUFFMAN; ST-PIERRE, 2001).

Os intervalos de referência para NUL preconizados pela literatura variam de 8,5 a 16 mg dL^{-1} (OLTNER, WIKTORSSON, 1983; JONKER et al., 1988; KOHN et al., 2002) e foram obtidos a partir de estudos realizados na Suiça (OLTNER; WIKTORSSON, 1983) e EUA (JONKER et al., 1988; KOHN et al., 2002), em condições

de manejo, animais e dieta muito diferentes dos observados no Brasil. Além disso, o método de análise laboratorial do NUL provoca recomendações distintas de valores ideais. Vacas holandesas confinadas, recebendo dietas com 16,7% de PB, acima do qual não foram observados acréscimos de produção de leite nem de proteína do leite, apresentaram valores de NUL de 11, 9 e 12 mg dL^{-1} quando as amostras foram analisadas, por colorimetria, uréase ou infravermelho, respectivamente (BRODERICK, 2003).

Portanto, deve-se avaliar com cautela os intervalos recomendados para NUL, uma vez que, além das possíveis variações já citadas, o NUL sofre muita interferência dos DEL, genética, manejo do rebanho, o que faz com que a variação entre animais e entre experimentos seja muito grande (BRODERICK; HUHTANEN, 2007). Mais estudos são necessários para que se determine o intervalo ideal de NUL para vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais bem manejadas. Dessa forma, o mais prudente a ser feito na utilização de valores de NUL para monitoramento da dieta é tomar como base o próprio histórico do rebanho e, assim, identificar mudanças bruscas que podem refletir alterações na eficiência de uso do N pelos animais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no sistema de produção de leite do Centro de Treinamento de Recursos Humanos (CTRH) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP), em Piracicaba/SP. Nesse local, foram realizados três experimentos de campo, que serão descritos individualmente, seguidos pelo processamento das amostras e análises laboratoriais, que foram comuns aos três ensaios e, portanto, terão abordagem única.

3.1 Local, clima e instalações experimentais

Piracicaba está localizada a 580 metros de altitude, em região de clima tropical sub-quente úmido, caracterizado por 3 a 4 meses de seca por ano (IBGE, 2002). O sistema de produção de leite do CTRH possui 7 ha de pastagens de capim Elefante (*Penissetum purpureum* cv Napier e Cameron) e 3 ha de capim colonião *(Panicum maximum* cv Colonião), manejados de forma intensiva sob pastejo rotativo. A imagem de satélite da área de pastagens do CTRH, bem como as demarcações de seus piquetes e de suas glebas de solo, está apresentada na figura 3. Os experimentos foram desenvolvidos apenas na área de capim elefante, dividida em 33 piquetes de 2.000 m^2.

Figura 3 – Área utilizada pelos animais do experimento (contorno vermelho). As letras indicam a gleba do solo da qual o piquete pertence

As condições climáticas do local e do período nos quais foram realizados os experimentos estão apresentadas na tabela 4. As chuvas nesse período ocorreram de forma muito irregular, concentrando grande volume de água em poucos dias, seguidos por vários dias secos. O crescimento da planta forrageira acompanhou esse comportamento, acentuado pela insolação esparsa causada pela grande concentração de nuvens mesmo nos dias sem chuva, o que dificultou o manejo do pastejo segundo as metas previamente estabelecidas.

Tabela 4 – Condições climáticas observadas durante o período experimental

		Dez/2008	**Jan/2009**	**Fev/2009**	**Mar/2009**	**Abr/2009**
Temperatura (ºC)	**Média**	24,0	24,1	25,3	25,1	22,2
	Máxima	30,2	28,9	30,6	30,1	28,6
	Mínima	17,9	19,2	20,8	19,4	15,8
Umidade relativa (%)	**Média**	78,2	84,0	83,3	78,9	76,3
	Máxima	99,0	99,0	95,0	96,0	94,0
	Mínima	55,0	62,0	67,0	66,0	66,0
Insolação (h/d)	**Média**	7,3	4,7	5,8	6,8	8,2
	Máxima	13,0	10,5	12,4	10,9	11,5
	Mínima	0,6	0,0	0,0	1,7	2,4
Precipitação total (mm)		227,8	162,0	143,5	125,1	21,8
Dias de chuva		12	18	16	11	4

Fonte: Estação convencional do posto meteorológico da USP/ESALQ

A análise de solo da área de pastagens utilizada pelos animais experimentais está apresentada na tabela 5. Essas pastagens têm sido manejadas com lotações entre 7 a 12 UA.ha^{-1} há aproximadamente 40 anos, sem nunca terem necessitado de reforma, gradagem ou subsolagem. Nos últimos 10 anos, em virtude da elevação significativa da fertilidade do solo após tantos anos de fertilizações intensas, foi aplicado quase que exclusivamente nitrogênio e calcário nessas áreas. Isso resultou na redução nos teores de fósforo do solo para valores inferiores a 20 ppm em resina e nos teores de potássio para valores inferiores a 5% da CTC. Entretanto, não foram observados efeitos negativos na capacidade de suporte dessas áreas.

Tabela 5 – Análise de solo (0-20 cm) da área de pastagens utilizada pelos animais experimentais

	Gleba B	Gleba D	Gleba E	Gleba F
pH ($CaCl_2$)	5,0	4,9	4,8	5,0
M.O. (g/dm^3)	48	39	33	42
P resina (mg/dm^3)	15	9	13	13
S (SO_4) (mg/dm^3)	20	16	26	27
K (mmol$_c$/dm^3)	3,4	3,3	3	4,6
Ca (mmol$_c$/dm^3)	43	30	38	41
Mg (mmol$_c$/dm^3)	22	15	18	19
H+Al (mmol$_c$/dm^3)	53	42	52	48
Al (mmol$_c$/dm^3)	0	0	0	0
SB (mmol$_c$/dm^3)	69	48	59	65
T (mmol$_c$/dm^3)	122	90	111	113
V (%)	56	53	53	59
m (%)	0	0	0	0
K (%CTC)	2,8	3,7	2,7	4,0
B (mg/dm^3)	0,21	0,27	0,29	0,23
Cu (mg/dm^3)	7,2	4,5	4,4	4,6
Fe (mg/dm^3)	68	61	66	61
Mn (mg/dm^3)	27	19,2	20,4	22
Zn (mg/dm^3)	4,7	4,2	4	4,6

pH = potencial hidrogeniônico, MO = matéria orgânica, P = fósforo, S = enxofre, K = potássio, Ca = cálcio, Mg =magnésio, Al = alumínio, H = hidrogênio, SB = soma de bases, T = capacidade de troca catiônica, V = saturação de bases, m = saturação por alumínio, B = boro, Cu = cobre, Fe = ferro, Mn = manganês, Zn = zinco.

O sistema de produção conta ainda com equipamento de ordenha do tipo duplo quatro, linha alta, em espinha de peixe, e com galpão coberto, com piso e cochos de concreto para fornecimento de concentrado aos animais, individualmente (no caso de experimentos) ou em grupos (no caso do manejo da propriedade comercial).

3.2 Experimentos de campo

3.2.1 Experimento 1: avaliação do desempenho animal

3.2.1.1 Período experimental, animais e tratamentos

O experimento 1 teve duração de 76 dias, entre 11 de dezembro de 2008 e 25 de fevereiro de 2009, durante os quais se avaliou o desempenho e parâmetros metabólicos de vacas em lactação recebendo concentrados com três níveis crescentes de proteína bruta (PB) durante o verão.

Foram utilizadas 33 vacas Holandesas e mestiças (HPB X Jersey), provenientes do rebanho leiteiro do CTRH, 27 multíparas e 6 primíparas, com média de 129 (± 86) dias em lactação (DEL) e 451 (± 71) kg no início do experimento. Uma das vacas permaneceu no experimento apenas por 21 dias, quando precisou ser retirada por motivo de doença. A produção média inicial das vacas foi de 21,5 (± 4,1) L/d e a média durante todo o experimento foi de 19,5 L d^{-1}. Para exemplificar o tipo de animal utilizado, algumas fotografias estão apresentadas na figura 4.

Figura 4 – Fotografias de alguns animais experimentais para ilustrar o grupo genético predominante (HPB x Jersey)

Os tratamentos consistiram de três concentrados com níveis crescentes de PB, formulados a partir de milho moído fino e núcleo mineral utilizando o programa NRC (2001). Os níveis crescentes de PB foram obtidos substituindo-se parte do milho por farelo de soja, conforme pode ser observado na tabela 6.

Tabela 6 – Composição dos concentrados experimentais (%MS)

	T1	T2	T3
Milho moído fino	95,4	83,8	72,2
Farelo de soja	0,0	11,6	23,2
Núcleo mineral	4,6	4,6	4,6
PB concentrado	8,7	13,4	18,1

O concentrado foi fornecido individualmente aos animais (figura 5), fracionado em duas ofertas diárias (5h e 16 h), antes de cada ordenha. Cada grupo de três vacas formou um bloco. A quantidade de concentrado por vaca (kg dia^{-1}) oferecida para cada bloco foi estabelecida de acordo com a produção média do bloco no início do experimento, com base na relação de 1 kg de matéria natural (MN) de concentrado para cada 3 L de leite produzidos por dia. Essa quantidade foi mantida durante todo o experimento.

Figura 5 – Fornecimento individualizado do concentrado experimental

3.2.1.2 Delineamento estatístico

O delineamento estatístico adotado nesse experimento foi o de blocos completos casualizados. As vacas foram agrupadas em 11 blocos com base na composição racial, dias em lactação, produção de leite pré-experimento e paridade de lactação.

Os animais passaram por período pré-experimental de 30 dias, nos quais receberam a mesma alimentação e manejo, com objetivo de reduzir a variação da

produção de leite do grupo. Após esse período, foi realizada a pesagem de leite utilizada para blocagem dos animais.

3.2.1.3 Manejo do pastejo

O método de pastejo adotado foi rotativo, utilizando altura como meta de entrada. Os animais tiveram acesso ao piquete quando o dossel forrageiro atingiu 1 ou 0,9 metro de altura, o equivalente a 95% de interceptação luminosa (IL) para o capim Cameron (VOLTOLINI et al., 2010) e Napier (DA SILVA comunicação pessoal), respectivamente.

As vacas do experimento formaram um lote único de pastejo, que permanecia um dia em cada piquete. No dia seguinte, um lote de animais de menor exigência (vacas secas, novilhas prenhas ou vacas de menor produção) realizava o repasse para rebaixamento do dossel forrageiro. O momento de retirada dos animais de repasse era decidido por observação visual do resíduo, de modo a manter folhas verdes remanescentes para acelerar a rebrotação.

A adubação nitrogenada foi realizada em cada ciclo de pastejo, no máximo 3 dias após a saída dos animais de repasse dos piquetes. Foram utilizados 50 kg de N ha^{-1} por ciclo, visando permitir taxa de lotação de 8 a 12 UA ha^{-1}.

3.2.1.4 Medições no pasto e amostragem dos alimentos

A altura de entrada e saída dos animais experimentais nos piquetes foi monitorada diariamente, sendo determinada como a média de 20 pontos medidos por piquete, em caminhamento ziguezague, com auxílio de uma régua. As medidas de pré-pastejo, que determinavam o momento de entrada dos animais no piquete, eram feitas no ponto de inflexão das folhas. A altura final do resíduo de cada piquete, após a saída dos animais de repasse, também foi monitorada.

A massa de forragem na entrada e saída dos animais foi determinada de modo destrutivo, cortando a planta a 5 cm do solo, em quatro pontos por piquete, com auxílio de máquina podadora de cerca viva. A moldura utilizada na coleta apresentou dimensões de 1m x 1m, segundo proposto por Penati et al. (2001).

As amostras foram coletadas três dias consecutivos por semana, durante todo período experimental, nos piquetes que estavam sendo utilizados no dia da coleta. A amostra colhida foi pesada *in natura,* homogeneizada e sub-amostra de aproximadamente 500 g foi retirada para a determinação do teor de MS da planta (estufa 55ºC por 72h) e determinação da composição morfológica do dossel, sendo separada em lâmina foliar, colmo e material senescido. O tecido foi considerado senescido quando mais de 50% de sua área já havia entrado em senescência, isto é, estava amarelo e seco. As metodologias de medição de altura do dossel e amostragem de capim estão exemplificadas na figura 6.

Figura 6 – Medição da altura de entrada (esquerda), altura de saída (centro) e a amostragem de forragem para determinação de massa (direita)

Amostras de forragem foram coletadas na forma de pastejo simulado, três dias consecutivos por semana, duas vezes por dia, após cada ordenha, sempre pela mesma pessoa. O objetivo das duas coletas diárias foi obter amostra representativa de diferentes estratos do dossel forrageiro, uma vez que após a ordenha da manhã, as vacas tinham acesso a um piquete novo e pastejavam as pontas do dossel, enquanto que após a ordenha da tarde o mesmo pasto já estava rebaixado e outro estrato estava disponível aos animais. As amostras foram secas em estufa a 55ºC por 72h e armazenadas à temperatura ambiente até o momento da análise.

Amostras dos concentrados experimentais foram coletadas semanalmente e armazenadas em temperatura ambiente até o final do experimento, quando foram reunidas em uma única amostra composta por tratamento para análise.

3.2.1.5 Pesagem e amostragem de leite

A pesagem do leite foi realizada durante três dias consecutivos por semana, durante todo período experimental, por meio de medidores do tipo “Mark 5”. No segundo dia de cada pesagem, foram coletadas amostras de leite das duas ordenhas de cada vaca e compostas em uma única amostra por vaca por semana. As amostras foram coletadas em tubo de 100 mL contendo 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol, metade do tubo na ordenha da manhã e metade na ordenha da tarde, homogeneizadas e armazenadas em geladeira por 24 horas até o momento das análises.

As análises de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram feitas por processo de infravermelho, com analisador Bentley 2000 (Bentley Instruments®), o nitrogênio uréico foi analisado com o equipamento ChemSpec 150 (Bentley Instruments®) e a caseína pelo método de infravermelho transformado de Fourier, com o analisador Combi Foss 6000 FTIV, junto ao Laboratório da Clínica do Leite do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

3.2.1.6 Pesagem e escore de condição corporal dos animais

O peso e condição corporal dos animais foram mensurados mensalmente (dezembro, janeiro e fevereiro), por dois dias consecutivos, logo após a ordenha da manhã. O escore de condição corporal utilizado foi o proposto por Wildman et al. (1982), com escala de 1 a 5 e intervalos de 0,25, estabelecendo-se 1 para a vaca extremamente magra e 5 para a vaca obesa. Essa avaliação foi feita sempre pela mesma pessoa, devido à subjetividade da medida.

3.2.1.7 Coleta de sangue

Amostras de sangue foram coletadas uma vez por mês (dezembro, janeiro e fevereiro), de todos os animais do experimento, 4 horas após a alimentação matinal, por meio de punção de vasos coccígeos em tubos com vácuo. As amostras foram centrifugadas a 3.000 g por 20 minutos a 4ºC para obtenção de plasma, acondicionadas em tubos de 2 mL do tipo "ependorff' e congeladas a -20° C para posterior determinação dos níveis de uréia plasmática.

3.2.1.8 Consumo de pasto: administração do marcador, coleta de fezes e digestibilidade dos alimentos

O consumo de pasto foi estimado a partir da produção total de fezes (PTF), determinada por meio do marcador externo óxido de cromo, e da digestibilidade dos alimentos, determinada com o uso do marcador interno matéria seca indigestível (MSi).

Durante 12 dias, no início de fevereiro, todas as vacas receberam oralmente 20 g de óxido de cromo, divididos em dois fornecimentos diários e ministrados em péletes de papel toalha (figura 7). Nos últimos 5 dias de fornecimento de cromo, foram coletadas amostras individuais de fezes, diretamente do reto do animal, duas vezes ao dia, que foram congeladas a -20ºC para posterior análise de concentração de óxido de cromo.

Figura 7 – Péletes de papel toalha com o marcador óxido de cromo (esquerda), administração do marcador (centro) e coleta de fezes (direita)

A digestibilidade do capim e dos concentrados foi determinada com o marcador interno MSi. Amostras de capim (composta por todas as sub-amostras de pastejo simulado), dos três concentrados e das fezes de cada animal foram moídas a 1mm, acondicionadas em bolsas de filtro F-57 (Ankom®) e incubadas no rúmen de uma vaca fistulada consumindo dieta mista (30% de concentrado) por 240 horas (CASALI, 2006). A incubação foi seguida de lavagem com água corrente até o total clareamento e secagem em estufa a 105ºC por 12 h, sendo o resíduo considerado a MSi.

3.2.1.9 Produção de proteína microbiana: coleta de urina

A produção de proteína microbiana foi estimada com base na concentração de derivados de purina presentes na urina de cada animal (STANGASSINGER et al, 1995).

A urina de todas as vacas foi coletada na forma spot (uma única amostra por animal), no mesmo dia em que foi realizada a última coleta de fezes.

A primeira tentativa de coleta visou aproveitar a micção natural das vacas, que geralmente ocorre quando elas se levantam após um longo período deitadas. Sendo assim, uma equipe se dirigiu à área de sombra onde os animais estavam no meio do dia, com um pote de coleta para cada vaca, e estimulou uma a uma a se levantarem. Caso o animal urinasse nesse momento, a urina era coletada, o pote era vedado e levado para o laboratório. Como não foi possível coletar de todos os animais dessa forma, os que faltaram foram coletadas após micção estimulada por massagem na vulva, no momento do fornecimento do concentrado da tarde.

Logo após a coleta, alíquota de 40 mL de urina foi retirada e acidificada com 2 mL de ácido clorídrico (HCl) 6N com o objetivo de reduzir o pH das amostras para menos de 3. Após a acidificação, as amostras foram congeladas a -20º C até o momento das análises.

3.2.1.10 Excreção de nitrogênio: coleta de fezes e urina

As amostras de fezes e urina coletadas para as determinações de óxido de cromo e derivados de purina, respectivamente, descritas nas duas seções anteriores, foram também utilizadas para determinação da concentração de nitrogênio.

A partir concentração de nitrogênio, da produção total de fezes, estimada pela concentração de óxido de cromo, e do volume total de urina, estimado pela concentração de creatinina, foram estimadas as excreções diárias (g) de nitrogênio na urina e nas fezes.

3.2.2 Experimento 2: avaliação do desempenho animal

3.2.2.1 Período experimental, animais, delineamento estatístico e tratamentos

O segundo experimento teve duração de 60 dias, entre 30 de janeiro e 30 de março de 2009, subdivididos em 4 períodos de 15 dias, durante os quais foram avaliados parâmetros ruminais e metabólicos de vacas secas recebendo concentrados com três níveis e duas fontes de PB.

Foram utilizadas 4 vacas secas holandesas, com peso inicial médio de 660 (± 110) kg, canuladas no rúmen. O delineamento estatístico adotado foi um quadrado latino 4x4, sendo que, em cada período, 10 dias foram destinados à adaptação dos animais à dieta e 5 dias à coleta de dados.

O experimento apresentou os mesmos 3 tratamentos do experimento 1, acrescido de um 4º tratamento, com a dose intermediária de proteína bruta (13,4%), mas tendo como fonte de nitrogênio a uréia, no lugar do farelo de soja, como mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 – Composição dos concentrados experimentais (%MS)

	T1	**T2**	**T3**	**T4**
Milho moído fino	95,4	83,8	72,2	93,8
Farelo de soja	0,0	11,6	23,2	0,0
Uréia	0,0	0,0	0,0	1,6
Núcleo mineral	4,6	4,6	4,6	4,6
PB concentrado	8,7	13,4	18,1	13,4

3.2.2.2 Manejo alimentar dos animais

As vacas foram mantidas no mesmo lote de pastejo do experimento 1 e receberam alimento concentrado duas vezes ao dia (5h e 16h). O consumo total das vacas foi previamente estimado de acordo com o NRC (2001), e a partir dele foi estabelecida a dose diária de concentrado para cada vaca, buscando manter a mesma relação volumoso:concentrado estimada para as vacas em lactação (65:35), com objetivo de simular ambiente ruminal semelhante. Sendo assim, a dose diária de concentrado fornecida para cada vaca foi de 5,7 kg de MN.

3.2.2.3 Manejo do pastejo, medições no pasto e amostragem dos alimentos

O manejo do pastejo, as medições no pasto e as amostragens de pastejo simulado e concentrado foram feitos da mesma forma descrita para o experimento 1, uma vez que as vacas dos dois experimentos formavam um lote único de manejo.

3.2.2.4 Coleta de fluido ruminal

A coleta de fluido ruminal foi realizada no primeiro dia de cada período de coleta, nos seguintes horários: 5h (fornecimento do concentrado), 7h, 10h, 13h, 16h (fornecimento do concentrado), 18h, 21h, 24h, 3h. Um cano de PVC com uma das extremidades vedada e com pequenos furos nas laterais foi inserido no rúmen pela fístula até atravessar a camada de partículas grosseiras ("mat" ruminal). Uma mangueira foi inserida dentro do cano e, com o auxílio de uma piceta, o líquido ruminal foi sugado por vácuo (figura 8).

Figura 8 – Coleta de fluido ruminal com auxílio de cano de PVC, mangueira e piceta

Aproximadamente 300 mL de fluido foram coletados de cada vaca em cada horário. Após a coleta, as amostras foram homogeneizadas, tiveram seu pH medido e alíquotas de 60 mL foram congeladas a -20ºC para posterior análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e de nitrogênio amoniacal.

3.2.2.5 Pesagem e escore de condição corporal dos animais

Os animais foram pesados e tiveram seu escore de condição corporal mensurado no início e final de cada período, por dois dias consecutivos, no período da manhã, sempre pela mesma pessoa. A escala de condição corporal utilizada foi a proposta por Wildman (1992), como descrito no experimento 1.

3.2.2.6 Coleta de sangue

Amostras de sangue foram coletadas no último dia de cada período de coleta, 4 horas após a alimentação matinal, por meio de punção de vasos coccígeos em tubos com vácuo. As amostras foram centrifugadas a 3.000 g por 20 minutos a 4ºC para obtenção de plasma, acondicionadas em tubos de 2 mL do tipo "ependorff' e congeladas a -20° C para posterior determinação dos níveis de uréia plasmática.

3.2.2.7 Consumo de pasto: administração do marcador, coleta de fezes e digestibilidade dos alimentos

O óxido de cromo foi utilizado como marcador externo para determinação de produção total de fezes para posterior estimativa de consumo de forragem. Dessa forma, 20 g do marcador foram administradas diariamente, do 3º ao 15º dia de cada período, diretamente no rúmen das vacas por meio das fístulas, duas vezes ao dia, em péletes de papel toalha de 10 g.

As fezes de cada animal foram coletadas nos últimos 5 dias da administração do marcador, duas vezes ao dia, congeladas a -20ºC para posterior secagem, moagem, composição e análise de concentração de cromo, que foi realizada juntamente com as amostras do experimento 1.

O marcador externo hidroxifenilpropano modificado e enriquecido (LIPE®) também foi utilizado para determinação de produção fecal. Uma cápsula comercial de 0,5 g foi ministrada diariamente pela fístula ruminal nos últimos 7 dias de cada período. As fezes foram coletadas nos últimos 5 dias e enviadas para análise em laboratório comercial da empresa fornecedora do marcador.

Para determinação da digestibilidade in vivo dos alimentos, necessária também para o cálculo de consumo de forragem, foi utilizado o marcador interno MSi, conforme metodologia descrita para o experimento 1.

3.2.2.8 Produção de proteína microbiana: coleta de urina

A produção de proteína microbiana foi estimada com base na concentração de derivados de purina presentes na urina de cada animal (STANGASSINGER et al, 1995). A coleta de urina foi realizada nos três últimos dias de cada período, duas vezes ao dia,

nos horários das alimentações, acidificada e congelada a -20º C, para posterior composição de uma amostra por animal por período e análise.

O ácido utilizado foi o HCl 6N, na proporção de 2 mL de ácido para 40 mL de urina, sempre certificando-se de que o pH da amostra ficasse menor que 3. Caso mais ácido tenha sido necessário para atingir esse pH, a diluição foi anotada para posterior correção nos cálculos.

3.2.2.9 Excreção de nitrogênio: coleta de fezes e urina

As amostras de fezes e urinas coletadas para as determinações de óxido de cromo e derivados de purina, respectivamente, descritas nas duas seções anteriores, foram também utilizadas para determinação da concentração de nitrogênio.

A partir da concentração de nitrogênio, da produção total de fezes, estimada pelos dois marcadores utilizados, e do volume total de urina, estimado pela concentração de creatinina, foram estimadas as excreções diárias (g) de nitrogênio na urina e nas fezes.

3.2.3 Experimento 3: avaliação de cinética ruminal do capim

3.2.3.1 Período experimental, animais, delineamento estatístico e tratamentos

O terceiro experimento teve duração de 48 dias, entre 6 de junho e 23 de julho de 2009, subdivididos em 4 períodos de 12 dias, durante os quais se avaliou a degradabilidade ruminal do capim elefante em vacas recebendo concentrados com três níveis e duas fontes de PB.

Foram utilizadas as mesmas 4 vacas secas holandesas do experimento 2, distribuídas em um quadrado latino 4x4 e submetidas aos mesmos tratamentos experimentais do experimento 2. Em cada período experimental, 7 dias foram dedicados à adaptação dos animais à dieta e 5 dias destinados à incubação do capim.

3.2.2.2 Manejo alimentar dos animais

Como este experimento foi realizado na época de menor crescimento da planta forrageira, apenas as 4 vacas do experimento estavam utilizando as pastagens de capim elefante, enquanto o resto do rebanho estava confinado. Dessa forma, o período

de ocupação dos piquetes de 2.000 m² foi maior do que as 24 horas utilizadas nos experimentos 1 e 2.

A meta de entrada no piquete com base na altura do dossel também não pôde ser mantida, uma vez que com a estacionalidade da produção de forragem, a altura de 1 m não seria atingida. Portanto, no início do experimento, foi estabelecida uma seqüência dos piquetes disponíveis, de acordo com suas alturas, e as vacas permaneceram em cada piquete até o rebaixamento do dossel à altura de resíduo final. O período de ocupação médio durante o experimento foi de aproximadamente 3 dias.

O fornecimento de concentrado foi realizado duas vezes ao dia, às 7h30 e às 18h, na dose de 4,5 kg de MN por animal.

3.2.2.3 Preparação das amostras e incubação *in situ*

A amostra de capim que foi incubada representou o pasto de verão e foi composta pelas sub amostras de pastejo simulado das 10 semanas do experimento 1. As amostras semanais foram moídas a 5 mm e alíquota de mesmo peso de cada uma foi utilizada na composição da amostra final.

A incubação foi realizada em sacos de nylon de 10x20 cm e porosidade de 50 micras. Aproximadamente 5 g de amostra foram colocadas em cada saco, com o objetivo de manter a relação quantidade de amostra/área de superfície do saco de nylon de 10 a 20 mg/cm², proposta por Nocek (1988).

Os sacos de nylon foram amarrados a uma corrente e incubados no rúmen por 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas, nos últimos 5 dias de cada período (figura 9). A incubação foi feita em ordem cronológica reversa e as amostras foram retiradas simultaneamente. Em cada horário, várias replicatas foram colocadas em cada animal, a fim de que o resíduo da incubação fosse suficiente para realização de todas as análises desejadas. Nos horários de 120, 96 e 72 horas, 6 sacos foram colocados em cada horário, nos de 48 e 24 horas, foram 5, no de 12 horas, 4 sacos, nos de 6 e 3 horas, 3 sacos e, finalmente, no horário de 0 hora, apenas 2 foram utilizados.

Figura 9 – Sacos de nylon utilizados na incubação e corrente dentro do rúmen da vaca

Após a retirada do rúmen, os sacos foram lavados com água fria e corrente até o total clareamento, secos em estufa a 55ºC por 72 horas e pesados. As replicatas foram reunidas em uma única amostra por horário, moídas a 1 mm e armazenadas em temperatura ambiente até o momento da análise.

3.3 Análises laboratoriais e cálculos

3.3.1 Composição bromatológica dos alimentos

As amostras semanais de pastejo simulado, previamente moídas a 5 mm, foram agrupadas de acordo com o mês de coleta, formando três amostras: uma para cada mês do experimento (dezembro, janeiro, fevereiro). A composição foi feita com alíquotas de mesmo peso de cada uma das sub-amostras. As amostras de concentrado coletadas semanalmente foram compostas em uma amostra por tratamento. Todas as amostras finais de alimento foram, então, moídas a 1 mm para realização das análises bromatológicas, no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

Foram realizadas análises de matéria seca (MS), extrato etéreo (EE) e cinzas segundo a AOAC (1990), proteína bruta (PB) por combustão de Dumas (Leco 2000, Leco Instruments Inc), FDN (com sulfito para todas as amostras e amilase para as de concentrado), FDA e lignina segundo Van Soest et al. (1991). As análises de N-FDN e N-FDA foram realizadas por digestão com detergentes neutro (sem sulfito) e ácido, seguida de determinação do nitrogênio total nos resíduos, pelo micro Kjeldahl (AOAC,

1990). O NDT dos alimentos foi calculado a partir da equação proposta por Weiss (1992).

A digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) da forragem e dos concentrados foi analisada segundo metodologia proposta por Tilley e Terry (1963) adaptada segundo Goering e Van Soest (1970), na qual o estágio de digestão com pepsina e ácido clorídrico é substituído pela lavagem com detergente neutro. A digestibilidade *in vivo* (DvivoMS) foi obtida por meio do marcador interno MSi, conforme metodologia previamente descrita, como sendo o inverso da indigestibilidade, calculada como a relação entre concentração do marcador no alimento e concentração do marcador nas fezes de cada animal.

A avaliação de digestibilidade com uso de marcadores internos apresenta a vantagem de determinar a digestibilidade do mesmo alimento em cada animal, uma vez que utiliza as fezes individuais, enquanto o método *in vitro* determina um valor único para o alimento, resultado de um ambiente estático. A determinação individual leva em conta variações na digestibilidade do alimento no organismo de cada animal, decorrentes de diferenças no consumo, na taxa de passagem e no metabolismo. Sendo assim, para o cálculo do consumo de MS, foi utilizado o valor de digestibilidade dos alimentos obtidos para cada animal com uso do marcador.

O fracionamento da proteína bruta do capim foi feito de acordo com o Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS), da Universidade de Cornell, Nova York (SNIFFEN et al., 1992). A fração A corresponde ao nitrogênio não protéico (NNP), analisado como sendo o nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA) (LICITRA et al, 1996). A fração B1 é composta pela proteína verdadeira solúvel e é determinada pela diferença entre o nitrogênio solúvel em solução tampão de borato fosfato (KRISHNAMOORTY et al, 1982) e o NNP. A fração C, considerada indisponível ao animal, é o nitrogênio ligado de forma irreversível à parede celular e é determinado pelo nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) (VAN SOEST et al., 1991). A fração B3 corresponde à proteína verdadeira de lenta degradabilidade e é calculada pela diferença entre nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) (VAN SOEST et al, 1991) e NIDA. Por fim, a fração B2 é a proteína verdadeira de média degradabilidade e é calculada como o nitrogênio total menos todas as outras frações.

3.3.2 Nitrogênio uréico no plasma

As amostras de plasma foram descongeladas, homogeneizada (com o auxílio de equipamento vórtex) e analisadas para determinação dos níveis de uréia plasmática. A análise consistiu na hidrólise da uréia com urease, seguida de reação com hipoclorito e fenol, de acordo com Chaney; Marbach (1962), com adaptação para leitura de microplaca utilizando filtro para absorbância de 550 nanômetros.

3.3.3 Consumo de pasto

As amostras de fezes foram moídas a 1 mm e as 10 amostras coletadas de cada animal foram reunidas de forma equivalente para compor uma amostra por vaca do experimento 1 e uma amostra por vaca por período do experimento 2. As amostras foram, então, submetidas à digestão nitro-perclórica a quente (VEGA; POPPI, 1997) no Laboratório de Tecidos Vegetais do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP.

O plasma resultante da digestão foi analisado para concentração de cromo pela técnica de espectrometria de emissão ótica por plasma acoplado indutivamente, no Laboratório de Análise Ambiental e Geoprocessamento do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). A produção total de fezes foi calculada pela equação (1):

$$\text{Excreção fecal (kg MS/d)} = \frac{\text{quantidade do marcador administrada (g)}}{\text{concentração do marcador nas fezes (g/kg MS)}} \quad (1)$$

A indigestibilidade dos alimentos, necessária também para o cálculo do consumo, foi determinada pela concentração de MSi no alimento dividida pela concentração de MSi nas fezes de cada animal.

A contribuição fecal proveniente do concentrado (PF concentrado) foi determinada como sendo a quantidade de concentrado oferecida multiplicada por sua indigestibilidade. O valor obtido foi descontado da produção fecal total para estimativa do consumo de forragem. Sendo assim, o consumo de pasto foi calculado com a equação (2).

$$\text{Consumo de pasto (kg MS/d)} = \frac{\text{PTF} - \text{PF concentrado (kg)}}{(1 - \text{Digestibilidade do capim})} \qquad (2)$$

A produção total de fezes dos animais do experimento 2 foi calculada também pelo marcador LIPE®. A concentração do marcador nas fezes foi determinada por espectroscopia no infravermelho, no laboratório da empresa que comercializa o produto.

3.3.4 Produção de proteína microbiana

As amostras de urina foram descongeladas, homogeneizadas e uma alíquota de 5 mL foi diluída com 20 mL de água miliq (ultrapura). As amostras diluídas foram enviadas para o Laboratório de Nutrição Animal do CENA/USP para determinação de creatinina, alantoína e ácido úrico por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC).

A concentração de creatinina foi utilizada para estimar o volume de urina produzido diariamente, assumindo-se que a excreção diária de creatinina é função constante do peso do animal (CHIZZOTTI et al, 2008). Para vacas adultas, Chizzotti et al (2008) encontraram valor de 0,213 mmol/Kg PV, que foi adotado neste estudo. Sendo assim, o volume diário de urina foi calculado com a equação (3).

$$\text{Volume de urina (L/d)} = \frac{\text{excreção diária de creatinina (mmol/d)}}{\text{concentração de creatinina na urina (mmol/L)}} \qquad (3)$$

A partir do volume de urina e das concentrações de alantoína e ácido úrico, foi calculada a excreção diária de derivados de purina (DP). Os cálculos para estimativa de produção de proteína microbiana a partir da excreção de DP seguiram as recomendações de Chen e Gomes (1992), em seu manual prático sobre a técnica.

O primeiro passo foi estimar a quantidade de purinas absorvidas (Pabs), a partir da equação (4).

$$\text{Pabs (mmol/d)} = \frac{\text{excreção DP (mmol)} - (\text{contribuição endógena (mmol)})}{\text{recuperação das Pabs como DP na urina}} \qquad (4)$$

A contribuição endógena de derivados de purina é muito variável e dependente de diversos fatores como o tipo de animal, consumo, desempenho. Os valores utilizados no estudo foram retirados de trabalhos realizados com animais o mais parecido possível com os utilizados nos experimentos. A contribuição endógena adotada no cálculo foi 0,512 mmol (kg peso metabólico)$^{-1}$ para vacas em lactação (GONZALEZ-RONQUILLO et al, 2003) e 0,236 mmol (kg peso metabólico)$^{-1}$ para vacas secas (ORELLANA BOERO et al. 2001).

A recuperação das purinas absorvidas como derivados de purina na urina também varia de acordo com o tipo de animal e os valores utilizados neste estudo foram de 74% para vacas em lactação (GONZALEZ-RONQUILLO et al, 2003) e 84% para vacas secas (ORELLANA BOERO et al. 2001).

A partir da quantificação das purinas absorvidas, calculou-se o nitrogênio microbiano (Nmicr) produzido no rúmen, de acordo com a equação (5):

$$\text{Nmicr (g/d)} = \frac{\text{Pabs (mmol/d) X quantidade de N nas purinas (g/mmol)}}{\text{Relação Npurina: Ntotal X digestibilidade purinas microbianas X 1000}} \quad (5)$$

Assume-se que a quantidade de N das purinas é constante e igual a 70 mg N/mmol e que a digestibilidade intestinal das purinas microbianas é de 83% (CHEN; GOMES, 1992). A relação entre o nitrogênio contido nas purinas e o nitrogênio total dos microorganismos é diferente para cada tipo de microorganismo. Zinn e Owens (1986), ao desenvolverem a técnica das purinas para quantificação de contaminação microbiana em resíduos de incubação in situ, obtiveram relação Npurina:Ntotal de 0,149 para microorganismos ruminais. Portanto, esse foi o valor utilizado neste estudo. O nitrogênio microbiano multiplicado por 6,25 fornece o valor de proteína microbiana produzida diariamente.

3.3.5 Excreção de nitrogênio na urina e nas fezes

As amostras de fezes foram moídas a 1 mm e as 10 amostras coletadas de cada animal foram reunidas de forma equivalente para compor uma amostra por vaca do experimento 1 e uma amostra por vaca por período no experimento 2. As amostras finais de cada vaca foram submetidas à análise de nitrogênio total pelo método de

combustão de Dumas (Leco 2000, Leco Instruments Inc). A concentração de nitrogênio nas fezes foi multiplicada pela produção total de fezes, previamente calculada com o uso dos marcadores (óxido de cromo e LIPE®), para determinação da excreção diária de nitrogênio (g) nas fezes.

As amostras de urina foram descongeladas, homogeneizadas, compostas (no caso do experimento 2, no qual havia 6 sub amostras por vaca por período) e uma alíquota de 0,5 mL foi utilizada para determinação do nitrogênio total por Micro Kjeldhal (AOAC, 199). O teor de N obtido foi multiplicado pelo volume diário de urina para determinação da excreção diária de nitrogênio (g) na urina.

3.3.6 Eficiência de uso do nitrogênio dietético

A eficiência de utilização do nitrogênio dietético foi calculada apenas para o experimento 1, como sendo a relação entre nitrogênio excretado no leite na forma de proteína bruta e o nitrogênio consumido.

3.3.7 Parâmetros ruminais

As amostras de fluido ruminal foram descongeladas em temperatura ambiente e centrifugada a 15.000 g por 30 minutos para separar as partículas de conteúdo ruminal presentes nas amostras. O sobrenadante foi analisado para ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), por cromatografia em fase gasosa (ERWIN et al, 1961), e de nitrogênio amoniacal, de acordo com Chaney e Marbach (1962).

3.3.8 Degradação *in situ* do capim

Os resíduos de todos os horários das incubações *in situ* foram analisados para MS, PB, FDN e cinzas, conforme metodologia já citada nas análises bromatológica dos alimentos.

Os valores de desaparecimento da MS, PB e FDN foram ajustados por modelos não lineares pelo PROC NLIN do pacote estatístico SAS (2003) para determinação das frações A, B e C, taxa de degradação da fração B (kd) e fase de latência discreta (“lag time”).

O modelo utilizado para degradação de FDN foi o proposto por Mertens e Loften (1980), que corresponde à lei do decaimento exponencial de primeira ordem corrigido para o lag time. As equações (5 e 6) que descrevem esse modelo estão descritas a seguir:

$$Y = b + I, \text{ se } 0 \leq t \leq L \ (1) \quad (5)$$

$$Y = b.e^{-c(t-L)} + I, \text{ se } t > L \quad (6)$$

Nas quais: Y = material remanescente no tempo t (%), b = fração potencialmente degradável (%), I = fração indigestível (%), c = taxa de degradação da fração b (%/h), L = lag time (h). Esse modelo não apresenta fração A, pois considera todo material desaparecido no tempo 0 como perda de lavagem, já que, por definição, FDN não apresenta fração solúvel.

Para a degradação da MS e da PB (sem correção para contaminação microbiana ruminal) foi utilizado o modelo de McDonald (1981), que consiste na adaptação do modelo de Orskov e McDonald (1979) para inclusão do lag time. Ambos os modelos consistem em uma curva de crescimento assintótico de primeira ordem e foram desenvolvidos para o estudo da degradação ruminal da proteína, mas também se ajustam de forma satisfatória a degradação da MS. O modelo está descrito pela equação (7).

$$Y = a + b\,(1 - e^{-c(t-L)}) \quad (7)$$

Na qual: Y = material degradado no tempo t (%); a = fração solúvel (%); b = fração potencialmente degradável (%); c = taxa de degradação da fração b (%/h), L = lag time (h).

A degradabilidade potencial (DP) das três classes de nutrientes foi determinada como sendo material degradado quando o tempo t tende ao infinito. Dessa forma, a expressão $e^{-c(t-L)}$ tem seu valor igual a 1, e a DP é calculada como a soma das frações solúvel (A) e potencialmente degradável (B).

Para determinação da degradabilidade efetiva (DE), utilizou-se a equação (8), levando-se em conta taxas de passagem (kp) de 2 (DE2), 5 (DE5) e 8% h^{-1} (DE8), visando representar situações de ingestão alimentar baixa, média e alta, respectivamente (ARC, 1984; PIRES et al, 2006).

$$DE = a + (b.c) / (c + kp) \qquad (8)$$

3.4 Análises estatísticas

Os dados dos 3 experimentos foram analisados pelo PROC MIXED do pacote estatístico SAS (2003), adotando-se as características do modelo específicas para cada variável. As médias foram calculadas pelo LSMEANS ajustado para comparação pelo teste Tukey, quando necessário. O nível de significância (α) adotado foi de 5%, salvo nas variáveis previamente especificadas, para as quais foi adotado α de 10%.

Os dados de produção e composição do leite (experimento 1) foram analisados como medidas repetidas no tempo, por terem sido tomados semanalmente no mesmo animal. Os efeitos fixos considerados no modelo foram tratamento, semana e a interação tratamento X semana. O bloco foi considerado efeito aleatório e a semana foi tomada como medida repetida.

Os dados de nitrogênio uréico no plasma do experimento 1 foram analisados como medidas repetidas no tempo, por terem sido tomadas mensalmente no mesmo animal. Os efeitos fixos considerados no modelo foram tratamento, mês e a interação tratamento X mês. O bloco foi considerado efeito aleatório e o mês considerado medida repetida.

As variáveis do experimento 1 consumo de pasto, eficiência de uso do N, excreção de N, produção de proteína microbiana e ganho de peso diário foram determinadas uma única vez em cada animal. Sendo assim, o tratamento foi considerado efeito fixo no modelo e bloco como efeito aleatório.

Os dados de parâmetros ruminais (pH, AGCC e nitrogênio amoniacal) (experimento 2) foram analisados como medidas repetidas no tempo, pois o fluido ruminal foi coletado em vários horários no mesmo animal. O período, tratamento,

horário e a interação tratamento X horário foram considerados efeitos fixos do modelo, enquanto o animal foi considerado aleatório e o horário foi tomado como repetição.

Os dados de NUP, consumo de pasto, excreção de N e produção de proteína microbiana do experimento 2 foram determinados uma única vez em cada animal e, portanto, o período e o tratamento foram considerados efeitos fixos e o animal efeito aleatório.

Os parâmetros de degradabilidade *in situ* do capim (experimento 3) foram analisados com efeito fixo de período e tratamento e com efeito aleatório de animal.

Após as análises estatísticas, foram avaliadas a normalidade dos resíduos e heterogeneidade das variâncias de todas as variáveis para a identificação de outliers. O critério adotado para determinação e exclusão de dados discrepantes foi o resíduo studentizado (Stdres) superior a 3 ou inferior a -3.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1: avaliação de desempenho animal

4.1.1 Características estruturais do dossel forrageiro

Na tabela 8 são apresentadas as características estruturais médias do dossel forrageiro, bem como as participações de seus componentes morfológicos. A altura média de entrada correspondeu à meta de manejo para o capim elefante cv Cameron, na qual 95% de interceptação luminosa são atingidos com aproximadamente 103 cm de altura (VOLTOLINI et al., 2010). Entretanto, aproximadamente 30% da área utilizada de pastagens era ocupada por capim elefante cv Napier, cuja meta de altura de entrada é de 90 cm (DA SILVA, informação pessoal). Sendo assim, para este último cultivar não se conseguiu trabalhar com altura de entrada recomendada. Isso ocorreu em virtude das condições climáticas, que faziam com que o capim estacionasse o crescimento por alguns dias sem chuva ou de baixa luminosidade e, na presença de chuva ou luminosidade, vários piquetes do cv Napier atingissem a altura de entrada ao mesmo tempo.

O intervalo entre pastejos médio durante o período experimental foi de 28 dias. A taxa de lotação média, considerando apenas os animais experimentais, foi de 6,1UA ha^{-1}. As vacas do experimento removeram em média 39,7 cm do dossel, ou 39% da altura de entrada. Essa medida é importante, uma vez que estudos recentes têm demonstrado que quando o rebaixamento do dossel atinge 50% da altura de entrada dos animais no piquete, o consumo é significativamente prejudicado por limitações comportamentais (CARVALHO et al, 2009). Após a permanência de um dia no piquete, os animais experimentais eram manejados para nova área e um lote de repasse rebaixava o dossel até a altura final do resíduo, que foi de 52 cm no período experimental.

Tabela 8 – Características estruturais médias do capim elefante no momento de entrada e saída dos animais do piquete

Parâmetro	Entrada	Saída
Altura, cm	102,2	62,4
Massa de forragem, kg MS ha^{-1}	9.600	6.250
Densidade volumétrica, kg MS $(ha.cm)^{-1}$	94	100
Participação dos componentes		
Folhas, %MS	42,6	25,5
Colmos, %MS	38,0	47,6
Material morto, %MS	19,4	26,9
Relação folha:colmo	1,12	0,53

De acordo com a tabela 8, a massa de forragem que desapareceu entre a entrada e saída dos animais foi de aproximadamente 3,3 toneladas de MS ha^{-1}, sendo 76% desse valor representado por folhas. Como os piquetes tinham área de 0,2 ha, a massa removida foi de 660 kg por piquete, ou 18 kg MS por vaca, uma vez que o lote experimental continha 37 vacas (33 do experimento 1 e 4 do experimento 2). Esse valor é considerado não limitador do consumo, já que é quase duas vezes maior do que o consumo de forragem predito pelo NRC (2001) para esses animais.

A elevada massa de forragem produzida vem sendo observada ao longo dos anos nessa área experimental, apresentando valores de 8 (BALSALOBRE, 1996) a 16 (MARTINEZ, 2004) toneladas de MS ha^{-1} por ciclo de pastejo. Entretanto, até 2004, a entrada dos animais nos piquetes era determinada por período fixo de descanso, fazendo com que os pastos apresentassem altas proporções de colmo no momento da entrada, entre 56% (MARTINEZ, 2004) e 63,5% (VOLTOLINI et al., 2010) da massa total e relação folha:colmo entre 0,53 (VOLTOLINI et al., 2010) e 0,6 (MARTINEZ, 2004).

Com a alteração da meta de manejo para altura, respeitando o estágio fisiológico da planta forrageira, a composição morfológica melhorou, com participação de 54,5% de folhas no material e relação folha:colmo de 1,29 nos trabalhos de Carareto (2007) e de Voltolini et al. (2010). No presente estudo, a proporção de folhas foi de 42,6% da massa de forragem (MF), valor este menor que os relatados por Carareto (2007) e Voltolini et al.(2010), que trabalharam na mesma área utilizando as mesmas metas de altura de entrada. Isto se deve à maior participação de material morto na massa de

forragem do presente estudo. Nos trabalhos de Carareto (2007) e de Voltolini et al. (2010) foi realizada roçada dos piquetes antes do início dos experimentos, fazendo com que o material morto no momento da entrada dos animais representasse apenas 5% de toda massa de forragem. A relação folha:colmo de 1,12 no presente estudo também foi menor que a relatada pelos por Carareto (2007) e de Voltolini et al. (2010) de 1,29, mas mesmo assim é um valor que evidencia condição do dossel forrageiro favorável ao consumo dos animais.

A adubação nitrogenada influencia diretamente a massa de forragem de plantas forrageiras, especialmente tropicais, para as quais já foram observadas respostas lineares em produção de massa até doses de 800 kg N ha^{-1} (CORSI, NUSSIO, 1993). Entretanto, quanto maior a dose de N aplicada, mais rápido é o metabolismo da planta, fazendo com que ela atinja o ponto de 95% de IL em menor número de dias. Para que a forragem extra produzida seja colhida na altura recomendada (95% de IL) e utilizada com eficiência pelos animais, o intervalo de desfolha deve ser reduzido e a lotação dos pastos aumentada com o aumento das doses de fertilizante nitrogenado.

Dessa forma, a adubação pode também ser utilizada para ajustar oferta e demanda de forragem, de acordo com o número de animais e disponibilidade de suplementos alimentares do sistema, facilitando o manejo do pastejo. Entretanto, o presente estudo não fez uso desta ferramenta para que a dose de N aplicada não influenciasse no teor de PB do capim e causasse confundimento dos resultados.

4.1.2 Características nutricionais dos alimentos

A análise bromatológica do capim e dos concentrados está apresentada na tabela 9. Como era esperado, o manejo do pastejo e as adubações nitrogenadas propiciaram elevado teor de proteína bruta no capim. A diferença entre os teores observados de proteína bruta dos concentrados analisados em relação aos teores planejados não prejudicou o intervalo representativo entre os tratamentos.

Tabela 9 – Análise bromatológica do capim e dos concentrados experimentais do experimento 1

Parâmetro	Capim	T1 (8,7%PB)	T2 (13,4%PB)	T3 (18,1%PB)
MS (%)	18,6	88,7	89,8	89,7
PB (% MS)	18,5	9,5	15,2	18,7
EE (% MS)	2,5	3,6	2,4	2,3
Cinzas (% MS)	11,1	3,2	6,8	6,6
FDN (% MS)	58,7	10,3	10,6	10,7
FDA (% MS)	30,8	2,8	3,7	4,2
Lignina (% MS)	2,63	0,18	0,20	0,17
DIVMS[1] (% MS)	75,9	92,6	92,8	93,6
DIVivo[2] (% MS)	57,53	79,60	78,32	78,30
NDT[3] (%)	60,03	87,93	82,39	82,36

[1]DIVMS: digestibilidade in vitro da MS; [2]DIVivo: digestibilidade in vivo da MS [3]NDT calculado pela fórmula de Weiss et al. (1992)

O decréscimo no valor estimado de NDT (Weiss et al., 1992) para os tratamentos 2 e 3 era esperado, uma vez que o ingrediente que substituiu o milho nesses tratamentos foi o farelo de soja, que apresenta teores mais elevados de cinzas e menores de NDT que o milho (NRC, 2001). Entretanto, a inclusão de farelo de soja nas proporções realizadas nos tratamentos 2 e 3 (11,6% e 23,2%, respectivamente) deveria elevar o teor de cinza do concentrado para aproximadamente 3,5% no tratamento 2 e 3,7% para o tratamento 3, tomando como base a composição do farelo de soja das tabelas do NRC(2001). A composição do farelo de soja utilizado nos concentrados poderia elucidar esses questionamentos, mas não foram coletados ingredientes separadamente, apenas os concentrados já misturados.

A diferença no valor energético dos concentrados com base no NDT (Weiss et al., 1992) não foi confirmada pelos dados de DIVMS e DIVivo. De acordo com estas estimativas, os concentrados apresentaram valores energéticos similares. Isto pode ser explicado pelo fato do milho utilizado ser do tipo duro ou “flint”, que apresenta menor digestibilidade do amido que o milho dentado. A fórmula de Weiss et al. (1992) considera 98% de digestibilidade para a fração CNF, independente de ser rica em amido de milho “flint” ou dentado. Com base no exposto acima, pode-se concluir que os concentrados apresentaram-se isoenergéticos.

A diferença entre os valores de digestibilidade *in vitro* e *in vivo* é esperada e decorre da influência da taxa de passagem sobre a degradabilidade efetiva dos alimentos. A digestibilidade *in vitro* determina a digestibilidade potencial do alimento em número de horas determinado, obtida em meio artificial e estático (incubação laboratorial das amostras em fluido ruminal por 48 horas). Já a digestibilidade *in vivo*, por relacionar as fezes de cada animal com o alimento ingerido, representa a natureza dinâmica do processo digestivo e leva em conta a velocidade com que os alimentos passaram pelo trato gastrointestinal, influenciada diretamente pelo consumo individual.

O capim apresentou bom valor nutritivo, caracterizado por baixos teores de FDN e lignina e alto teor de proteína bruta. Isso é decorrente tanto do método de amostragem, que busca representar a seleção realizada pelo animal no momento do consumo, quanto do manejo da pastagem, que combinou fertilização nitrogenada com colheita da planta no ponto fisiológico adequado. A sincronização desses dois fatores, adubação e intervalo de desfolhas, é importante para que seja possível oferecer ao animal forragem de elevado valor nutritivo. Quando o crescimento da planta é estimulado pela adubação nitrogenada, o manejo com intervalo de desfolhas fixos aumenta as chances da forragem disponível ser mais velha fisiologicamente, com tecidos mais lignificados e menor relação folha:colmo, uma vez que a planta entra em fase de competição por luz, estimulando a produção de colmos (HODGSON, 1990).

Entretanto, as amostras de pastejo simulado, coletadas em experimentos que utilizaram elevadas doses de adubação (40 a 80 kg N ha^{-1} por ciclo) e intervalos de desfolhas fixos, de 27 dias, apresentaram pouca variação na composição bromatológica em relação às amostras colhidas com base na altura correspondente a 95% de IL (CARARETO, 2007; ROMERO, 2008; VOLTOLINI et al, 2010). Isso é conseqüência da elevada proporção de folhas no material amostrado na forma de pastejo simulado.

Mesmo com composições bromatológicas semelhantes, plantas manejadas com diferentes metas (número de dias fixo ou altura) proporcionaram desempenhos diferentes desempenhos em vacas leiteiras (14,1 contra 16,7 kg leite dia^{-1} para pastos manejados com dias fixos ou altura, respectivamente) (VOLTOLINI et al, 2010), o que sugere que a variação decorre de outro fator que não o valor nutritivo da planta. O maior desempenho dos animais manejados com intervalos de pastejo variáveis

decorreu provavelmente do maior consumo de pasto possibilitado pela melhor estrutura de dossel apresentada aos animais, com maior relação folha:colmo.

O consumo de forragem é um dos limitantes do desempenho individual de vacas leiteiras mantidas em pastagens (SANTOS et al, 2003) e, por isso, é muito importante a utilização de práticas de manejo do pastejo e dos animais que potencializem a ingestão de pasto.

O teor de PB da planta, apesar de indicador importante de seu valor nutritivo, não determina quanto dessa proteína será efetivamente utilizada pelo animal. Por isso, é importante que se conheça como a PB está distribuída dentro da planta e, dessa forma, seja possível estimar sua real contribuição para a proteína metabolizável da dieta. Na tabela 10 estão apresentados os resultados das análises de NNP, N solúvel, NIDN e NIDA, realizadas em amostra de pastejo simulado. A partir desses valores foram calculadas as frações protéicas (tabela 11), como já descrito anteriormente (Sniffen et al, 1992).

Tabela 10 – Análises laboratoriais realizadas para o fracionamento da PB do capim

Amostra	**N total (% MS)**	**NNP**	**N solúvel**	**NIDN**	**NIDA**
		(% N total)			
Capim	2,96	21,26	30,47	33,68	4,84

Tabela 11 – Frações protéicas segundo o CNCPS (Sniffen et al., 1992)

Amostra	**A**	**B1**	**B2**	**B3**	**C**
			(% PB)		
Capim	21,26	9,21	35,85	28,84	4,84

A fração A é composta por amônia, nitrito, aminoácidos e peptídeos rapidamente convertidos em amônia no rúmen. A fração B representa a proteína verdadeira potencialmente degradável e é dividida em 3 subfrações de acordo com sua taxa de degradação ruminal (KRISNAMOORTY et al, 1983). A proteína solúvel, rapidamente degradada, constitui a fração B1. A fração B2 apresenta taxa de degradação intermediária, enquanto a B3 é lentamente degradada no rúmen, por se tratar de proteína associada à parede celular (NIDN menos NIDA). A fração C é formada pela

proteína indisponível, tanto no rúmen quanto no intestino, ligada fortemente à parede celular (NIDA).

Os dados disponíveis na literatura sobre fracionamento protéico de plantas forrageiras tropicais são escassos e muito variados, obtidos sob diferentes condições de manejo do pastejo, métodos de amostragem da planta e época do ano. Os dados obtidos neste estudo corroboram com os encontrados por Romero (2008), que trabalhou na mesma área, com capim elefante (cv Cameron) sob dois manejos do pastejo (período de descanso fixo ou baseado na altura) no verão e obteve valores médios de 25,37, 1,87, 34,1, 32,24 e 6,4 para as frações A, B1, B2, B3 e C, respectivamente, com teor médio de PB de 17%. A autora não encontrou diferenças entre os manejos, uma vez que o período de descanso baseado na interceptação luminosa ficou muito próximo do período fixo (31 e 27 dias, respectivamente).

Lacerda et al. (2004), trabalharam com capim Cameron sob pastejo rotacionado no verão com período de descanso de 35 dias e relataram teor de PB de 11,7%, sendo 32,99% solúvel (A+B1), 61,3% de média e lenta degradação (B2+B3) e 5,7% indisponível (C).

Os fatores que afetam o fracionamento da PB da planta forrageira tropical ainda são pouco elucidados. A adubação nitrogenada e o intervalo entre cortes parecem ter algum efeito, principalmente nas frações A e C. Johnson et al (2001) avaliou o efeito de 5 doses de nitrogênio no fracionamento protéico de Tifton 85 cortado aos 28 dias, a 7,6 cm do solo. O teor de nitrogênio aumentou significativamente a fração A e reduziu a fração C, como mostra a figura 10.

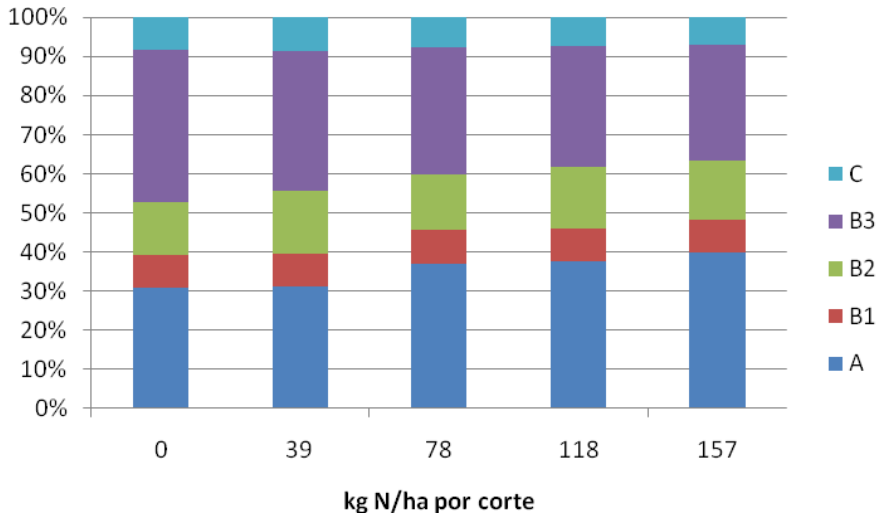

Figura 10 – Efeito da adubação nitrogenada no fracionamento protéico no Tifton 85 cortado aos 28 dias a 7,6 cm do solo (JOHNSON et al., 2001)

Esse efeito, entretanto, pode ser confundido com o efeito do teor de PB sobre o fracionamento. Johnson et al. (2001) relataram teores de 9,81, 10,94, 13,81, 15,75 e 18,13% de PB, para as doses de 0, 39, 78, 118 e 157 kg N ha^{-1} por corte, respectivamente. Dos trabalhos citados na revisão de literatura, foram compilados dados de 11 trabalhos, com 15 avaliações de fracionamento protéico em plantas forrageiras tropicais. O teor de PB do capim se mostrou significativamente correlacionado com as frações A (r = 45,8% e P= 0,02), B2 (r = -29,5% e P = 0,05), B3 (r = 32,1% e P = 0,03) e C (r = -68,5% e P < 0,01).

Além da adubação nitrogenada (JOHNSON et al., 2001; ROGERS et al., 1996), o estágio fisiológico da planta pode ter importância na forma como essa proteína está distribuída dentro do organismo vegetal. Cabral et al. (2000) avaliaram o efeito da idade da planta no fracionamento protéico, com duas alturas de corte para o capim Tifton-85 (30 e 50 cm). Os autores observaram que o avanço da maturidade implicou em redução de 32% no porcentual de PB (14,7% para 10%), bem como nas proporções das frações B1, B2 e B3 em 56, 20 e 16%, respectivamente. Além disso, a fração C aumentou 38% e a fração A aumentou 116% quando o corte da planta foi efetuado com 50 cm, em relação à altura de corte de 30 cm.

Esse comportamento, no entanto, pode ser conseqüência do método de amostragem da planta. O corte realizado a 7,6 cm do solo propicia a colheita de colmos e material senescido que, em situação de pastejo, permaneceria no dossel. A maior proporção de colmos no material colhido pode ter aumentado a fração C. Já o material senescido, como está em processo de decomposição e já passou por proteólise, poderia ser o responsável pela elevação da fração A.

Vendramini et al. (2008) avaliaram o efeito da idade da planta (14 ou 28 dias) no fracionamento protéico do Tifton 85 amostrado acima da altura de resíduo (15 cm do solo) e observaram redução na fração solúvel (38, 4% e 32,8%) e aumento na fração C (20,7% e 28,1%) com o aumento na idade de corte.

Boa parte dos trabalhos disponíveis na literatura sobre fracionamento protéico analisou a planta inteira (VIEIRA et al., 1997; LACERDA et al., 2004; JOHNSON et al., 2001). Mais estudos são necessários para que se avalie precisamente o efeito de cada fator de manejo no fracionamento protéico da porção da planta colhida pelos animais, sem que haja confundimento com outras variáveis.

O prejuízo acarretado pelo aumento da fração C é evidente, visto que maior quantidade de proteína encontra-se indisponível ao animal. No entanto, excesso de nitrogênio não protéico também é danoso e reduz a eficiência de utilização do nitrogênio dietético. O NNP é degradado em amônia assim que entra no rúmen e pode ser utilizado pelos microrganismos para produção de proteína microbiana, desde que haja energia e esqueletos carbônicos prontamente disponíveis para completar a reação. As plantas forrageiras apresentam baixos teores de carboidratos solúveis, portanto, a menos que suplementos energéticos de rápida degradação ruminal sejam utilizados, poderá ocorrer desperdício de nitrogênio quando essas plantas estiverem com elevada concentração de NNP.

4.1.3 Consumo e desempenho das vacas em lactação

Os dados de consumo de MS (CMS), produção e composição do leite, NUP, síntese microbiana estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12– Consumo de MS, produção e composição de leite, nitrogênio uréico no plasma, síntese microbiana e eficiência de uso do N de acordo com o nível de proteína bruta no concentrado (experimento 1)

Parâmetro	**T1 (8,7%PB)**	**T2 (13,4%PB)**	**T3 (18,1%PB)**
CMS total, kg /d	22,84$_{(1,17)}$	20,70$_{(1,13)}$	22,52$_{(1,17)}$
CMS total, %PV/d	4,70$_{(0,28)}$	4,71$_{(0,25)}$	4,65$_{(0,29)}$
CMS de pasto, kg/d	16,69$_{(1,17)}$	14,60$_{(1,12)}$	16,30$_{(1,17)}$
CMS de pasto, %PV/d	3,38$_{(0,26)}$	3,36$_{(0,23)}$	3,26$_{(0,25)}$
Cons. pasto ajustado[1], kg/d	13,25$_{(0,97)}$	11,55$_{(0,93)}$	12,90$_{(0,97)}$
Leite, kg/dia	19,56$_{(1,20)}$	19,08$_{(1,20)}$	18,94$_{(1,21)}$
LCG[2], kg/d	19,42$_{(1,05)}$	18,90$_{(1,05)}$	18,70$_{(1,05)}$
Gordura, %	3,53$_{(0,10)}$	3,45$_{(0,10)}$	3,45$_{(0,10)}$
Gordura, g/d	677,30$_{(32,3)}$	654,10$_{(32,3)}$	653,50$_{(32,4)}$
Proteína, %	3,25$_{(0,08)}$	3,23$_{(0,08)}$	3,35$_{(0,08)}$
Proteína, g/d	625,90$_{(33,9)}$	615,80$_{(33,9)}$	632,70$_{(33,9)}$
Caseína, %	2,59$_{(0,07)}$	2,59$_{(0,07)}$	2,69$_{(0,07)}$
Caseína, g/d	505,10$_{(27,3)}$	491,2$_{(27,3)}$	503,8$_{(27,4)}$
Lactose, %	4,48$_{(0,07)}$	4,52$_{(0,07)}$	4,41$_{(0,07)}$
Lactose, g/d	873,0$_{(51,2)}$	863,1$_{(51,2)}$	833,8$_{(51.4)}$
Sólidos totais, %	12,20$_{(0,24)}$	12,16$_{(0,24)}$	12,17$_{(0,24)}$
Sólidos totais, g/d	2.360,3$_{(128,5)}$	2.308,7$_{(128,5)}$	2.293,6$_{(128,8)}$
NUL[3],mg/dL	**8,34$_{(0,36)}$c**	**10,41$_{(0,36)}$b**	**13,34$_{(0,37)}$a**
Prot microbiana, g/d	2.110,8$_{(140,9)}$	2.130,23$_{(128,1)}$	2.194,7$_{(149,1)}$
NUP[4], mg/dL	**14,79$_{(0,5062)}$b**	**15,80$_{(0,5537)}$ab**	**17,74$_{(0,5875)}$a**

[1]Consumo de pasto ajustado para recuperação fecal do cromo de 82,5%; [2]LCG: leite corrigido para 3,5% de gordura; [3]NUL: nitrogênio uréico no leite; [4]NUP: nitrogênio uréico no plasma;
Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com P<0,05
Números entre parênteses correspondem ao erro padrão da média (EPM)

O aumento no teor de PB no concentrado não ocasionou aumento no consumo de forragem, indicando que não houve limitação na ingestão decorrente de deficiência de nitrogênio no rúmen nos animais consumindo apenas pasto e concentrado energético (T1). Os valores de consumo de pasto estimados pelo uso de óxido de

cromo foram superestimados em comparação aos preditos pelo NRC (2001) e pelo CPM Dairy para as condições do presente estudo.

Um dos problemas da utilização do óxido de cromo como marcador para estimativa de consumo é a recuperação fecal parcial do cromo, o que superestima a produção total de fezes e, assim, o consumo. A recuperação fecal parcial do óxido de cromo já vem sendo relatada na literatura desde década de 60 (HARDISON et al., 1959; CLANTON, 1961, LASSITER et al., 1966; McGUIRE et al., 1966; HATTAN, OWEN, 1969), com índices de recuperação entre 80 e 95%. Apesar disso, o emprego do óxido de cromo é bastante difundido e tem sido o indicador mais amplamente utilizado para a estimativa da produção fecal, principalmente em ensaios de pastejo (ASTIGARRAGA, 1997).

Estudos mais recentes têm mostrado que a recuperação do cromo nas fezes é variável (SOARES et al., 2004) e dependente da composição química do volumoso da dieta (BERCHIELLI et al., 2005) e da dosagem utilizada (RIBEIRO FILHO et al., 2008). Como não foi realizado ensaio de coleta total de fezes para se determinar o coeficiente de recuperação fecal do Cr_2O_3 no presente estudo, foi considerada recuperação de 100%, provocando provável superestimativa da produção de fezes.

Vacas leiteiras mantidas em pastagens de clima temperado conseguem consumir ao redor de 16 kg MS de pasto por dia (HOLMES et al, 2002). Entretanto, devido a diferenças tanto no clima, mais ameno nas regiões temperadas, quanto na composição bromatológica e estrutura do capim, com maior teor de fibra nas plantas tropicais e maior proporção de colmos, dificilmente vacas mantidas em pastagens tropicais conseguem atingir esse nível de consumo.

O consumo de pasto ajustado para recuperação fecal incompleta encontra-se na tabela 13. O índice de recuperação fecal utilizado no cálculo foi de 82,5% e foi determinado como a média dos valores encontrados em trabalhos da literatura que utilizaram dietas com base em pastagens (RIBEIRO FILHO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2007). Com o ajuste para recuperação fecal, os valores se aproximaram dos preditos (NRC, 2001), embora permaneçam superiores. A provável superestimativa no consumo de pasto, teoricamente, não deve prejudicar a comparação entre tratamentos, uma vez que todos foram submetidos à mesma forma de avaliação.

Na tabela 13 estão apresentadas as relações volumoso:concentrado médio para os três tratamentos e os teores de PB de cada dieta, a partir dos consumos de pasto estimados pelo cromo com recuperação fecal de 100% e 82,5%.

Tabela 13 – Relações volumoso:concentrado e os teores de PB das dietas a partir dos consumos de pasto estimados pelo cromo com recuperação fecal (RF) de 100% e 82,5%

Parâmetro	**RF 100%**	**RF 82,5%**
CMS pasto (kg dia^{-1})	15,86	12,56
CMS concentrado (kg dia^{-1})	6,10	6,10
CMS total (kg dia^{-1})	21,96	18,66
Volumoso:concentrado	72:28	67:33
% PB da dieta – T1	15,7	15,3
% PB da dieta – T2	17,0	16,8
% PB da dieta – T3	18,3	18,4

Com base nesses dados, é possível afirmar que teores de PB da dieta superiores a 15,3% MS não aumentam o consumo de pasto de vacas no terço médio de lactação, com produção ao redor de 20 kg dia^{-1}.

As produções de leite e de leite corrigido para 3,5% de gordura não foram afetadas pelo acréscimo de proteína no concentrado (tabela 12), evidenciando que o pasto com 18% de PB e o concentrado energético foram suficientes para atender às exigências de proteína metabolizável de vacas no terço médio da lactação produzindo ao redor de 20 kg dia^{-1}. Essa resposta se deve ao elevado teor de proteína bruta do capim, situação cada vez mais freqüente em sistemas intensivos de produção de leite em pastagens. De acordo com os dados da Tabela 13, a dieta controle continha entre 15,3 a 15,7% de PB. Vacas holandesas confinadas produzindo acima de 30 kg dia^{-1}, que apresentaram respostas quadráticas ao incremento de PB na dieta, tendo como nível máximo 16,5% (BRODERICK, 2003; OLMOS COLMENERO, BRODERICK, 2006).

A produção individual média obtida neste estudo, de 19,2 kg dia^{-1}, com vacas no terço médio de lactação indica que as vacas utilizadas têm bom potencial genético.

Os horários das alimentações (5h e 16h) e das ordenhas (6h e 17h) foram determinados de modo a maximizar o tempo de pastejo das vacas e manter o intervalo entre ordenhas o mais próximo possível de 12 h. Dessa forma, as vacas eram alimentadas antes da ordenha da manhã, em horário em que não estariam pastejando por ainda estar escuro. A alimentação e ordenha da manhã eram feitas de modo a permitirem que as vacas retornassem ao pasto até as 7h, para maximizar o pastejo da manhã. Do mesmo modo, a alimentação da tarde acontecia em horário em que as vacas estariam na sombra, em virtude das altas temperatura e insolação, e aguardava-se até as 18 h (ou até o sol ter baixado) para levá-las de volta ao piquete, para garantir que elas não se direcionassem novamente para sombra.

A produção média de vacas mantidas em pastagens tropicais, de acordo com dados compilados da literatura recente (2003-2010), previamente citados no tópico 2.1 deste trabalho, foi de 14 kg dia^{-1}. Entretanto, a dose média de concentrado oferecida para as vacas nesses trabalhos foi de 3,1 kg dia^{-1}, enquanto no presente estudo foi de 6,1 kg dia^{-1}. Além disso, o teor médio de PB do capim obtido da compilação de trabalhos foi de 15%, contra 18,5% deste experimento.

A análise dos dados da literatura, provenientes de 56 comparações, mostrou correlação positiva e significativa entre o teor de PB do capim e a produção de leite (r = 65,88%, $P < 0,01$). O mesmo aconteceu para a quantidade de concentrado consumida diariamente pelos animais (r = 59,24%, $P < 0,01$). Quando o efeito de ambos os fatores sobre produção de leite foram considerados em uma regressão múltipla, o modelo se mostrou significativo ($P < 0,0001$) e correlação negativa entre o teor de FDN do capim e a produção de leite (r = -31,76, $P < 0,05$). O efeito dos dois fatores, PB e FDN, na produção de leite, avaliados pela regressão múltipla, apresentou coeficiente de determinação de 45,2% ($P < 0,01$). Esses resultados devem ser observados com cautela para evitar confundimento com outros fatores que não foram incluídos nesse banco de dados. As respostas em produção de leite não são decorrentes exclusivamente dos teores de PB e FDN do pasto, e sim conseqüência de outros fatores que também influenciam o valor nutritivo da forragem, como adubação e manejo de pasto, que podem otimizar o consumo individual dos animais. No entanto, os dados

demonstram a importância do valor nutritivo da forragem nas variáveis de produção de leite, proteína e gordura.

O teor de gordura no leite e a produção diária de gordura não foram afetados pelos tratamentos (tabela 12) e apresentaram média de 3,48% e 661,6 g dia^{-1}, respectivamente. O aumento do consumo de nitrogênio dietético só provocaria aumento no teor de gordura do leite em relação a uma dieta deficiente em proteína degradável no rúmen (PDR). A deficiência de PDR limita a atividade dos microrganismos e, com isso, prejudica a degradação dos alimentos, em especial da fibra, acarretando, entre outros problemas, baixos teores de gordura no leite. Portanto, elevação no teor de gordura no leite em resposta à elevação de PB da dieta é forte indicativo de que a dieta controle estava deficiente em PDR. No presente experimento, como não houve respostas ao incremento de proteína dietética, pode-se concluir que não houve limitação da atividade microbiana nos animais que consumiam o tratamento de concentrado energético (T1), corroborando com as simulações realizadas com o uso dos programas NRC (2001) e CNCPS v5.

Os teores de gordura no leite observados no presente estudo (3,48%) corroboram com o teor médio de 3,5%, obtidos a partir da compilação dos 22 trabalhos conduzidos na última década em pastagens tropicais citados no item 2.1. Entretanto, teores de gordura ao redor de 3,5% observados no presente estudo são considerados baixos para animais com algum grau de sangue Jersey mantidos em pastagens com teores de FDN de 58,7% Em sistemas comerciais de produção de leite com vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagens tropicais e temperadas no sudeste dos EUA, e em pastagens temperadas na Nova Zelândia (NZ), têm sido relatados valores de gordura no leite superiores a 4% (SANTOS[1], informação pessoal) e 4,5% (LOPEZ-VILLALOBOS et al., 2000a e 2000b) respectivamente. Alguns fatores podem ser responsáveis por essa variação, com destaque para melhoramento genético, composição da dieta e conforto animal.

A seleção genética para maior produção de sólidos no leite vem sendo desenvolvida há muitos anos no sul dos EUA e na NZ, incentivada pelo sistema de

[1] SANTOS, J.E.P. Mensagem recebida por <marina.acd@gmail.com> em 6 agosto 2010.

pagamento adotado pelas indústrias desses países, que valoriza a quantidade de gordura e proteína no leite que está sendo entregue. No Brasil, apesar da disponibilidade de touros provados, melhoradores para sólidos, a inseminação artificial é prática relativamente recente e pouco adotada. Em 2009, foram comercializadas no Brasil aproximadamente 4 milhões de doses de sêmen de raças leiteiras (ASBIA, 2009), para um rebanho estimado no país ao redor de 20 milhões de vacas leiteiras (FNP, 2010).

Outro fator de grande importância é a composição das dietas oferecidas para esses animais. Na NZ, a dieta é quase totalmente composta por forragens, pastagens perenes e feno no verão e silagens de gramíneas e cultivos anuais no inverno (HOLMES, 2002). Já em fazendas comerciais no sul dos EUA, apesar da elevada inclusão de concentrado, que muitas vezes corresponde a mais de 50% da dieta (SANTOS, comunicação pessoal), os ingredientes utilizados são co-produtos fibrosos, como a casca de soja, casca de algodão, caroço de algodão, polpa cítrica, o que contribui para teores mais elevados de FDN efetivo da dieta e menores de CNF, principalmente amido.

No presente estudo, e na maioria dos estudos compilados na literatura, os principais ingredientes utilizados na formulação dos concentrados foram milho e farelo de soja. O milho é rapidamente degradado a lactato no rúmen e pode promover abaixamento de pH, tornando o ambiente ruminal mais propício para biohidrogenações incompletas dos ácidos graxos dietéticos e, com isso, aumentar o risco de inibição de síntese de gordura na glândula mamária. Quando comparados com vacas consumindo exclusivamente pastagens, animais suplementados geralmente apresentam menor teor de gordura no leite, mas essa redução é dependente do tipo e dose de concentrado utilizados (STOCKDALE et al., 1990; DERESZ et al., 2001; SANTOS et al., 2003).

Entretanto, Martinez (2004; 2007) não observou aumento no teor de gordura do leite de vacas mantidas em pastagens de capim elefante, quando milho moído fino foi substituído em níveis crescentes por co-produtos como polpa cítrica, casca de soja, farelo de trigo e farelo de glúten (Refinazil®). De acordo com esse autor, apenas a inclusão de caroço de algodão no concentrado em substituição parcial ao milho e farelo de soja, causou aumento numérico, mas não significativo, no teor de gordura do leite.

Outra hipótese para o baixo teor de gordura no leite observado no presente estudo, que tem sido estudada mais recentemente, é a de que o perfil de ácidos graxos da planta forrageira tem efeito sobre teor e composição da gordura do leite (HECK et al., 2009). Pesquisadores de países que costumam utilizar pasto como base da dieta no verão e silagem de capim no inverno, como a Holanda, perceberam que o teor de gordura no leite das vacas consumindo pasto comumente era menor do que o das vacas alimentadas com silagem (HECK et al., 2009; ELGERSMA et al., 2004; COUVREUR et al., 2006). Ao estudarem o perfil de ácidos graxos dos dois tipos de forragens, observaram que a concentração de ácido linolênico em gramíneas frescas (i.e. pasto) é muito maior do que no material ensilado. Altos níveis de ácido linolênico estão associados à produção de ácidos graxos insaturados, como o CLA trans 10 cis 12, que inibem a síntese de lipídeos na glândula mamária e reduzem a proteína do leite (BAUMGARD et al., 2000).

Além disso, a planta utilizada para pastejo está geralmente em estágio fisiológico menos avançado do que a planta cortada para ensilagem. Isso também contribui para o menor nível de ácidos graxos polinsaturados, especialmente o linolênico, nas silagens em comparação com a planta fresca (FERLAY et al., 2006). A concentração de ácidos graxos em gramíneas, em particular do ácido graxo linolênico, foi positivamente relacionada ao teor de PB da gramínea (BOUFAÏED et al., 2003), o que poderia explicar os valores mais baixos de gordura observados em trabalhos que manejaram o pasto intensivamente e, assim, obtiveram capim com maior teor de PB.

O teor e a produção de proteína do leite não responderam ao aumento de PB no concentrado (tabela 7). O valor médio do teor de proteína observado no presente estudo (3,27%) é maior do que a média calculada a partir da compilação de 18 trabalhos da literatura dos últimos 7 anos que utilizaram vacas mantidas em pastagens tropicais (3,09%). Uma das principais razões para isso pode ser a diferença na ingestão de energia das vacas do presente experimento, que consumiam 3 kg de concentrado por dia a mais do que a média observada para os trabalhos da literatura (6,1 x 3,1 kg dia^{-1}). Entretanto, a produção média de leite das vacas no presente estudo foi maior que nos 18 trabalhos compilados (19,3 x 14,5 kg de leite por vaca).

O aumento comumente observado no teor de proteína do leite em resposta ao acréscimo de energia na dieta se deve tanto ao aumento de propionato no rúmen, que proporciona economia de aminoácidos para gluconeogênese aumentando sua disponibilidade para a glândula mamária, quanto à maior produção de proteína microbiana e, conseqüentemente, metabolizável. Apesar disso, o teor de proteína no leite apresentou baixa correlação com a dose diária de concentrado na compilação feita dos dados da literatura, provavelmente devido à grande variabilidade dos dados decorrentes de outros fatores que afetam a produção de leite e, assim, mascaram as respostas específicas do teor de proteína.

Por outro lado, a produção de proteína do leite (g dia^{-1}), assim como a produção de leite, foram positiva e significativamente correlacionada com o teor de PB do capim ($r = 64\%$, $P < 0,0001$) e com a dose diária de concentrado ($r = 64,02\%$, $P < 0,0001$). A regressão linear múltipla que avalia o efeito desses dois fatores sobre a produção de proteína do leite foi significativa ($P < 0,0001$) e apresentou r^2 de 55,17%, levemente superior ao coeficiente observado para produção de leite.

A caseína, principal proteína verdadeira do leite e responsável pelo rendimento industrial do produto, também não foi afetada significativamente pelo teor de proteína no concentrado (tabela 12). A literatura nacional é carente em informações sobre níveis de caseína no leite, uma vez que só há pouco tempo alguns laboratórios passaram a oferecer essa análise de forma rotineira.

A única alteração significativa que o aumento da proteína no concentrado provocou na composição do leite foi o aumento do nitrogênio uréico no leite (NUL), uma das vias de excreção de nitrogênio em excesso do organismo do animal. O nitrogênio em excesso é transformado em uréia no fígado e carregado pela corrente sanguínea até os rins, onde é excretado pela urina ou reciclado via parede ruminal e saliva. Por ser uma molécula pequena, rapidamente passa para a glândula mamária drenada pela corrente sanguínea (GUSTAFSSON; PALMQUIST, 1993), fazendo com que maiores teores de NUL sejam indicativos de excesso de nitrogênio dietético, ou utilização ineficiente desse nutriente (BRODERICK, HUHTANEN, 2007).

Dessa forma, o NUL tem sido utilizado como ferramenta para monitorar o status protéico da dieta, bem como sua adequação da relação energia:proteína (BRODERICK;

CLAYTON; 1997, GARCIA et al., 1997; HOF et al., 1997) e eficiência de uso do N (JONKER et al., 1998). O NUL apresenta elevada correlação com a concentração de nitrogênio na urina (BRODERICK; HUHTANEN, 2007; JONKER et al., 1988) e, portanto, também tem sido utilizado para estimativas de excreção de nitrogênio no ambiente (HRISTOV; HUHTANEN, 2007; MULLIGAN et al., 2004; KAUFFMAN; ST-PIERRE, 2001).

Os intervalos de referência para NUL preconizados pela literatura variam de 8,5 a 16 mg dL^{-1} (OLTNER, WIKTORSSON, 1983; JONKER et al., 1988; KOHN et al., 2002) e foram obtidos a partir de estudos realizados na Suiça (OLTNER; WIKTORSSON, 1983) e EUA (JONKER et al., 1988; KOHN et al., 2002), em condições de manejo, animais e dieta muito diferentes dos observados no Brasil. Além disso, o método de análise laboratorial do NUL provoca recomendações distintas de valores ideais. Vacas holandesas confinadas, recebendo dietas com 16,7% de PB, acima do qual não foram observados acréscimos de produção de leite nem de proteína do leite, apresentaram valores de NUL de 11, 9 e 12 mg dL^{-1} quando as amostras foram analisadas, por colorimetria, uréase ou infravermelho, respectivamente (BRODERICK, 2003).

Portanto, deve-se avaliar com cautela os intervalos recomendados para NUL, uma vez que, além das possíveis variações já citadas, o NUL sofre muita interferência dos DEL, genética, manejo do rebanho, o que faz com que a variação entre animais e entre experimentos seja muito grande (BRODERICK; HUHTANEN, 2007). Mais estudos são necessários para que se determine o intervalo ideal de NUL para vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais bem manejadas. Dessa forma, o mais prudente a ser feito na utilização de valores de NUL para monitoramento da dieta é tomar como base o próprio histórico do rebanho e, assim, identificar mudanças bruscas que podem refletir alterações na eficiência de uso do N pelos animais.

O NUL das vacas consumindo concentrado energético (tratamento 1), de 8,34 mg dL^{-1}, é menor do que todos os valores observados nos experimentos com capins tropicais conduzidos na última década (FIKE et al., 2002; CARARETO, 2007; MARTINEZ, 2008; GRECO, 2008; PEREIRA et al. 2009, VOLTOLINI et al., 2010). Isso poderia ser indicativo de deficiência de proteína na dieta, ou ainda de PNDR de baixa

digestibilidade intestinal. Entretanto, nenhuma das duas justificativas se aplica nesse experimento, uma vez que a inclusão de farelo de soja, fonte protéica com 65% de PDR e 93% de digestibilidade da PNDR (NRC, 2001), nos tratamentos 2 e 3 não provocou respostas em produção de leite ou proteína e causou aumento linear significativo ($P < 0,0001$) no NUL.

Os valores de NUL são positiva e significativamente relacionados com os valores de nitrogênio uréico no plasma (NUP), uma vez que é por meio do sangue que a uréia sai do fígado para chegar aos rins. Broderick e Clayton (1997) observaram coeficiente de determinação de 84,2% para modelo de estimativa de NUL a partir do NUP. A inclinação da reta encontrada pelos autores é de 62%, o que indica que os valores de NUP são maiores que os de NUL. Isso ocorreu e geralmente ocorre nos experimentos por causa do horário determinado para coleta de sangue, 4 h após a alimentação, quando a concentração de nitrogênio no plasma está próxima de seu pico (GUSTAFSSON; PALMQUIST, 1993). Dessa forma, altas concentrações de uréia no sangue são indicativas de uso ineficiente da proteína dietética por vacas leiteiras (BRODERICK; CLAYTON, 1997), seja por excesso de PB ou deficiência de energia na dieta. Os valores de NUP no presente experimento acompanharam o comportamento dos valores de NUL, porém com menor intervalo entre os tratamentos, o que anulou a diferença estatística entre T1 e T2 e entre T2 e T3. A produção de proteína microbiana não foi afetada pelo aumento no teor de proteína no concentrado (tabela 12), mostrando que na dieta com concentrado energético (T1) não houve déficit de proteína para os microrganismos ruminais. Entretanto, os valores estimados para síntese microbiana parecem estar superestimados. Mesmo utilizando os dados de consumo de pasto, que provavelmente já estão acima do consumo real, os valores obtidos para síntese microbiana estão mais de 30% acima do predito pelo NRC (2001). Aparentemente, os volumes de urina estimados pelo método dos derivados de purina foram bem maiores que as quantidades reais. Para fins de comparação entre os tratamentos, a superestimativa não se apresenta como problema, uma vez que todos os tratamentos foram submetidos aos mesmos índices, fórmulas, eventuais desvios entre valores observados e preditos.

A diferença entre os valores estimados no presente estudo pelo método de Chen e Gomes (1992) e os preditos pelo NRC (2001) pode ter sido conseqüência da utilização de índices nas fórmulas, como contribuição endógena e recuperação das purinas absorvidas na urina, desenvolvidos para animais muito diferentes dos do presente estudo. Os trabalhos de Gonzales-Ronquillo et al. (2003) e Orellana-Boero et al. (2001) foram realizados com vacas holandesas com peso vivo de 560 a 650 kg. Da mesma forma a excreção diária de creatinina varia de acordo com raça e estágio fisiológico do animal. O valor utilizado neste estudo foi proveniente do trabalho de Chizzotti et al. (2008), que também utilizou vacas holandesas pesando entre 429 e 728 kg. Nos três trabalhos os animais estavam confinados e ingerindo dietas a base de volumoso conservado. Alguns estudos estão sendo desenvolvidos em Universidades brasileiras com o intuito de determinar esses coeficientes para o tipo de animal mais utilizado em nossos experimentos (VALADARES, comunicação pessoal) e, dessa forma, melhorar a predição da produção de proteína microbiana.

São poucos os trabalhos que mediram síntese microbiana em vacas mantidas em pastagens tropicais. Além disso, as metodologias de análise dos derivados de purina e creatinina dificultam a comparação entre resultados de diferentes experimentos. Grande parte dos trabalhos disponíveis com vacas em pastagens, quase a totalidade desenvolvido com gramíneas temperadas, utilizou kits comerciais (BARGO et al., 2002) ou o método colorimétrico (GOZHO; MUTSVANGWA, 2008) para análise de creatinina, alantoína e ácido úrico. A utilização do HPLC, como no presente estudo, é recomendação recente e ainda não foi publicada uma padronização que permita comparar valores obtidos pelos diferentes métodos.

No entanto, apesar da possibilidade de interferência de todos esses fatores, Martinez (2008), utilizando metodologia semelhante a do presente experimento, observou valores de síntese microbiana entre 945 e 1.229 g dia^{-1}, valores estes dentro do predito pelo NRC (2001). A discrepância entre os dados dos 2 experimentos pode estar relacionada ao método de conservação e diluição da amostra de urina logo após a coleta, bem como ao número de coletas, que foi maior no experimento de Martinez (2008), sendo colhida uma amostra por vaca por período, ao passo que no presente estudo, foi realizada apenas 1 coleta de cada animal durante todo o experimento.

4.1.4 Excreção de nitrogênio

A amônia proveniente dos compostos nitrogenados em excesso na dieta, isto é, que foram absorvidos na parede ruminal ou intestinal e não foram utilizados para nenhuma função biológica, é convertida em uréia pelo fígado, e esta é transportada pela corrente sanguínea até os rins, onde é excretada pela urina. As proteínas microbiana, não degradável no rúmen e endógena que escapam da digestão intestinal são excretadas nas fezes. A excreção de quantidades excessiva de nitrogênio pelas fezes e urina pode contaminar o solo e, possivelmente, lençóis freáticos adjacentes. Além disso, a emissão de gases como amônia e óxido nitroso afetam a qualidade do ar, sendo este último 310 vezes mais prejudicial ao aquecimento global do que o gás carbônico (IPCC, 1996).

A prevenção de excreção excessiva de nitrogênio no ambiente por meio da manipulação da dieta é ferramenta mais eficiente e econômica do que o tratamento dos resíduos no momento da armazenagem (Kohn et al., 1997).

O consumo, excreção no leite, nas fezes e na urina e a eficiência de uso do nitrogênio dietético (EUN) das vacas em lactação estão apresentados na tabela 14. O consumo diário de nitrogênio foi maior ($P < 0,05$) no tratamento 3 do que nos tratamentos 1 e 2, corroborando com o maior teor de PB da dieta final deste tratamento (tabela 14). Não houve diferença entre os tratamentos 1 e 2 em virtude do consumo de pasto ter sido numericamente inferior no tratamento 2 que no tratamento 1.

Tabela 14 – Consumo, excreção e eficiência de uso do nitrogênio (EUN) para vacas recebendo concentrado com três níveis de PB

Parâmetro	T1 (8,7%PB)	T2 (13,4%PB)	T3 (18,1%PB)
Consumo N, g/d	**586,35$_{(34,66)}$b**	**581,66$_{(33,35)}$b**	**670,51$_{(34,66)}$a**
N leite, g/d	97,52$_{(5,08)}$	95,49$_{(5,08)}$	99,86$_{(5,08)}$
EUN, %	**18,36$_{(1,12)}$a**	**16,19$_{(1,05)}$b**	**15,45$_{(1,09)}$b**
N fezes, %	**2,61$_{(0,03)}$b**	**2,82$_{(0,03)}$a**	**2,80$_{(0,03)}$a**
N fezes, g/d	209,9$_{(11,9)}$	209,9$_{(13,2)}$	224,6$_{(14,0)}$
N urina, %	0,259$_{(0,040)}$	0,363$_{(0,038)}$	0,352$_{(0,042)}$
N urina, g/d	**15,62$_{(1,15)}$b**	**23,30$_{(1,03)}$a**	**23,22$_{(1,23)}$a**
N excretado, g/d	228,22$_{(14,37)}$	232,89$_{(15,24)}$	251,96$_{(17,60)}$

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com P<0.05
Números entre parênteses correspondem ao erro padrão da média (EPM)

A quantidade de N secretada no leite não foi alterada pelo teor de PB do concentrado, evidenciando a não ocorrência de respostas produtivas ao acréscimo de PB na dieta de pasto + concentrado energético (T1). Como a quantidade de N no leite foi a mesma para os três tratamentos, a eficiência de uso do N dietético (EUN) foi inversamente proporcional ao consumo de N (tabela 14).

A EUN do presente trabalho pode ser considerada baixa para vacas consumindo dietas com esses níveis de proteína. Em levantamentos realizados na Europa (998 dietas) e nos EUA (739 dietas) foram relatados valores médios de EUN de 27,7% e 24,7%, respectivamente (HUHTANEN, HRISTOV, 2009). A EUN apresentada na tabela 14 foi calculada a partir do consumo de pasto estimado com a recuperação fecal do cromo de 100%. Caso o valor de recuperação fecal de 82,5% seja utilizado, a EUN sobe para 21, 5% 18,8% e 18,3% para os tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente. Ainda assim os valores são bem menores do que a média obtida na Europa, onde os sistemas de produção exploram pastagens em algumas épocas do ano. Entretanto, a média de produção de leite no banco de dados europeu foi de 25,4 kg dia^{-1} e, quanto maior a produção de leite, mais eficiente são os animais para utilização do N da dieta (HUHTANEN; HRISTOV, 2009).

Como era esperado, o nitrogênio total excretado por dia acompanhou numericamente o teor de PB das dietas. A grande variabilidade dos dados pode ter prejudicado a detecção de significância estatística. A excreção de N nas fezes (g dia^{-1}) não foi alterada pelo aumento da PB do concentrado.

De modo geral, a excreção de nitrogênio nas fezes é pouco alterada com a manipulação do teor protéico da dieta, e isso vem sido confirmado em diversos trabalhos (PEYRAUD, ASTIGARRAGA, 1998; CASTILLO et al. 2001; MULLIGAN et al, 2004; MARINI, VAN AMBURGH, 2005; ZANTON, HEINRICHS, 2007). O N que aparece nas fezes é o N dietético e microbiano não digerido no intestino e os coeficientes de digestibilidade da PNDR de cada ingrediente, bem como das proteínas microbiana e endógena, são relativamente constantes.

A proporção do N consumido excretada nas fezes foi de 35,8, 36,1 e 33,5% para os tratamentos 1, 2, e 3. Esses valores são maiores do que o valor médio de 27,6% obtido pelos trabalhos de Bargo et al. (2002), Mulligan et al (2004) e Yan et al (2006). Apesar da fragilidade deste dado no presente estudo, decorrente das imprecisões da estimativa de consumo de pasto e, assim, de consumo de N, a maior participação do N consumido nas fezes pode indicar pior digestibilidade intestinal da PNDR do capim. Mais estudos são necessários para que se caracterize melhor o comportamento da planta forrageira no trato digestivo posterior.

Por outro lado, a excreção de N na urina foi maior (tabela 14) nas vacas recebendo concentrados com farelo de soja (T2 e T3). Esse fato era esperado, uma vez que os animais do T3 consumiram mais N e essa diferença não foi detectada no leite e nem nas fezes, ela só poderia aparecer na urina ou no ganho de peso (que será comentado no próximo tópico). Além disso, a urina se caracteriza como a principal via de excreção do N em excesso do organismo do animal, principalmente se esse excesso estiver em forma de PDR ou de PNDR com perfil inadequado de aminoácidos (PEYRAUD; ASTIGARRAGA, 1998; CASTILLO et al., 2001; MULLIGAN et al., 2004; MARINI; VAN AMBURGH, 2005; ZANTON; HEINRICHS, 2007). Quanto maior o teor de PB da dieta, ou quanto maior o desbalanço entre energia e proteína, maior é a participação do N uréico no N total da urina, potencializando o problema ambiental, uma

vez que o N uréico se converte para amônia e volatiliza em menos de 24 horas (PETERSEN et al., 1998).

Do nitrogênio consumido, apenas 3,38%, na média dos três tratamentos, foi eliminado na urina. Esse valor é muito menor do que comumente se observa na literatura, de 43,36% em animais em crescimento com consumo médio de N de 145 g dia^{-1} (MARINI; VAN AMBURGH, 2005), 44,6% (MULLIGAN et al., 2004), 43% (YAN et al., 2006) e 31,8% (BARGO et al., 2002) em vacas em lactação com consumo de N entre 486 e 671 g dia^{-1}. Essa discrepância de valores está muito mais provavelmente relacionada à metodologia de coleta e análise do N na urina do que a razões biológicas, mesmo porque a soma de todo o N excretado (urina, leite e fezes) corresponde a 54,5% do N consumido, sugerindo que 45,5% N ficaria retido no animal, o que não faz nenhum sentido. A retenção de N em vacas em lactação é muito pequena, menor que 10% (YAN et al., 2006), e é desconsiderada em muitos trabalhos de avaliação da dinâmica no N no organismo do animal (MULLIGAN et al., 2004).

Segundo Valadares (comunicação pessoal), a coleta spot, em qualquer hora do dia como é feito para determinação de creatinina e derivados de purina, não tem se mostrado adequada para estimativa de concentração de N na urina. A excreção de N na urina é dependente da alimentação e do processo digestivo do animal, que não seguem um padrão homogêneo ao longo do dia. Os trabalhos utilizados para comparação com os resultados do presente estudo, realizaram coletas representativas de todos os horários do dia.

4.1.5 Peso e escore de condição corporal

Na tabela 15 são apresentados o peso e escore de condição corporal (ECC) das vacas no início e no final do experimento. O aumento de peso das vacas ocorreu conforme esperado, em decorrência do avanço na lactação e foi semelhante entre os tratamentos. As vacas dos tratamentos 1, 2 e 3 ganharam 18, 16 e 23 kg, respectivamente, durante os 76 dias de experimento.

Tabela 15 – Peso e escore de condição corporal (ECC) das vacas no início e no final do experimento

Parâmetro	T1 (8,7%PB)	T2 (13,4%PB)	T3 (18,1%PB)	EPM
Peso				
11/12/2008	457	448	445	-
25/02/2009	475	464	468	-
GPD, g/d	239	210	293	77
ECC				
11/12/2008	2,80	2,82	2,80	
25/02/2009	2,77	2,82	2,80	

Apesar dos animais terem ganhado peso ao longo do período experimental, o ECC não aumentou. Isso pode ocorrer se o ganho de peso observado tiver sido decorrente do aumento de vísceras, o que não reflete no ECC.

De qualquer forma, o ECC final de 2,8, para vacas com DEL médio de 205 é baixo. Caso o intervalo entre partos dessas vacas seja de 12 meses, elas teriam 160 dias para recuperar 0,7 unidades de ECC para atingirem 3,5 no parto. Assumindo 1 ECC igual a 80 kg de PV, as vacas teriam que ganhar 56 kg além de aproximadamente 50 kg de feto e placenta, ou seja, as vacas teriam que ganhar 0,66 kg dia^{-1}.

4.2 Experimento 2: avaliação do metabolismo animal

4.2.1 Características estruturais do dossel forrageiro

As características morfológicas e de manejo do pastejo são as mesmas descritas para o experimento 1, uma vez que os dois grupos de vacas utilizaram a mesma área experimental e consistiram um lote único de pastejo.

4.2.2 Características nutricionais dos alimentos

A análise bromatológica do capim e dos concentrados está apresentada na tabela 16.

Tabela 16 – Análise bromatológica do capim e dos concentrados experimentais

Parâmetro	Capim	T1 (8,7%PB)	T2 (13,4%PB)	T3 (18,1%PB)	T4 (13,4%PB)
MS (%)	18,6	88,7	89,8	89,7	88,8
PB (% MS)	18,5	9,5	15,2	18,7	13,9
EE (% MS)	2,5	3,6	2,4	2,3	3,7
Cinzas (% MS)	11,1	3,2	6,8	6,6	3,9
FDN (% MS)	58,7	10,3	10,6	10,7	11,3
FDA (% MS)	30,8	2,8	3,7	4,22	3,16
Lignina (% MS)	2,63	0,18	0,20	0,17	0,22
DIVMS[1] (% MS)	75,9	92,6	92,8	93,6	92,7
DIVivo[2] (% MS)	62,11	81,73	80,41	80,52	86,9
NDT (%)	60,03	87,93	82,39	82,36	87,00

[1]DIVMS: digestibilidade in vitro da MS; [2]DIVivo: digestibilidade in vivo da MS

A digestibilidade *in vivo* do capim observada no experimento de metabolismo é maior do que a encontrada no experimento de desempenho. Isso ocorre pois as vacas em lactação apresentam maior consumo total de matéria seca e, com isso, maior taxa de passagem dos alimentos pelo trato digestivo, o que reduz a digestibilidade efetiva dos mesmos.

4.2.3 Parâmetros ruminais, produção de proteína microbiana e nitrogênio uréico no plasma

Os parâmetros ruminais, síntese de proteína microbiana e nitrogênio uréico no plasma obtidos para os 4 tratamentos estão apresentados na tabela 17. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos para a variável pH ruminal. Isto era esperado, uma vez que todos os animais receberam a mesma dose de concentrado e não tiveram restrição ao consumo de forragem. O pH não foi menor que 6,4 em nenhum horário de coleta para nenhum tratamento, mostrando que o fornecimento de concentrado, inclusive do energético (T1), não prejudicou o ambiente ruminal.

Tabela 17 – Parâmetros ruminais, produção de proteína microbiana e nitrogênio uréico no plasma de animais recebendo níveis crescentes de proteína no concentrado e diferentes fontes de N dietético

Parâmetro	**T1 (8,7%PB)**	**T2 (13,4%PB)**	**T3 (18,1%PB)**	**T4 (13,4%PB)**	**EPM**
pH	6,583	6,651	6,533	6,594	0,144
N amoniacal, mg dL^{-1}	**9,41b**	**11,84ab**	**13,70a**	**11,85ab**	**0,710**
C2[1], milimol mL^{-1}	60,620	57,397	60,364	59,375	3,986
C3[2], milimol mL^{-1}	18,385	17,239	18,855	18,622	0,796
C4[3], milimol mL^{-1}	11,499	11,431	11,924	11,302	0,470
IC4[4], milimol mL^{-1}	1,011	1,060	1,097	0,994	0,038
IC5[5], milimol mL^{-1}	1,441	1,455	1,533	1,375	0,056
C2:C3	3,368	3,371	3,314	3,267	0,132
P microbiana, g d^{-1}	1220,15	1123,45	1271,87	1107,17	127,10
NUP[6], mg dL^{-1}	10,76	12,82	14,62	11,62	1,09

[1]C2: ácido acético; [2]C3: ácido propiônico; [3]C4: ácido butírico; [4]IC4: ácido isobutírico; [5]IC5: ácido isovalérico; [6]NUP: nitrogênio uréico no plasma;
Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com $P<0,05$

O pH ruminal de vacas mantidas em pastagens dificilmente é reduzido para menos do que 6, provavelmente devido ao nível adequado de FDN efetivo proporcionado pela planta forrageira oferecida inteira ao animal. O valor médio do pH para os 4 tratamentos do presente estudo foi de 6,6, valor um pouco superior aos obtidos na literatura para dietas com base em pastagens temperadas (VAN VUUREN et al., 1992; PEYRAUD et al., 1997; MACKLE et al., 1996; ELIZALDE et al., 1994, 1996; BARGO et al., 2002; BARGO et al., 2003; SODER; GREGORINI, 2010), que variaram de 5,99 a 6,6 com média de 6,3. Isso pode estar relacionado ao maior teor de FDN nas plantas tropicais do que nas temperadas. O teor médio de FDN das plantas utilizadas nos trabalhos citados foi de 46%, enquanto o do presente estudo foi 58,7%.

Portanto, ambiente ruminal desfavorável à digestão de fibra e favorável à biohidrogenação incompleta não parece ser uma das causas para o teor de gordura no leite relativamente baixo (3,48%) observado neste estudo com vacas produzindo ao redor de 20 kg de leite dia^{-1}. De qualquer forma, deve-se ter cuidado ao extrapolar os dados de fluido ruminal das vacas secas utilizados neste experimento (2) para as vacas em lactação, uma vez que o peso vivo e as exigências metabólicas dos dois grupos eram muito diferentes.

As concentrações de N amoniacal foram maiores (P<0,01) para os tratamentos 2, 3 e 4 em comparação ao tratamento 1. Esse comportamento era esperado, uma vez que os ingredientes protéicos (farelo de soja e uréia) são ricos em PDR (65% e 100%, respectivamente).

A suplementação energética para vacas mantidas em pastagens com alto teor de PB permite maior sincronia entre a proteína do pasto e a energia proveniente do milho, gerando melhor utilização dos compostos nitrogenados disponíveis no rúmen e, assim, reduzindo a concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal (BARGO et al., 2003). Quando o milho é substituído por ingredientes protéicos (farelo de soja ou uréia), além da disponibilidade de compostos nitrogenados no rúmen ser aumentada, a energia rapidamente fermentável é reduzida, devido à menor participação de milho na dieta.

A concentração de N amoniacal de 9,41 mg dL^{-1} no tratamento 1 é superior ao valor de 5 mg dL^{-1}, recomendado por Satter e Slyter (1974) como ideal para maximizar a síntese microbiana, ou seja, concentração abaixo da qual ocorre limitação dos microrganismos e acima do qual ocorre desperdício de N no rúmen. Entretanto, esse valor foi obtido a partir de ensaios com fermentadores *in vitro*, alimentados com dietas purificadas, livres de proteína e baixos níveis de volumoso na dieta (0 e 23%) (SATTER; SLYTER, 1972). Trabalhos posteriores, conduzidos com ovelhas (ALLEN et al., 1976; MEHREZ et al., 1977; PISULWEKSI et al., 1981) e vacas (ERDMAN et al., 1986) e utilizando dietas normais e avaliações *in situ* e *in vivo* concluíram que a concentração ótima de amônia no rúmen para maximizar síntese microbiana e desaparecimento da MS é dependente dos teores de PB e NDT da dieta, bem como do tipo de microrganismo presente no rúmen e de sua capacidade de saturação por amônia (SCHAEFER et al., 1980).

Em revisão recentemente publicada sobre o uso de uréia na alimentação de vacas leiteiras (KERTZ et al., 2010), o autor buscou propor um modelo para estimativa da concentração ótima de amônia no rúmen de acordo com características da dieta, mas obteve coeficiente de determinação muito baixo, de 50%, evidenciando que este é um indicador afetado por muitas variáveis.

Por outro lado, concentrações muito elevadas de amônia no fluido ruminal podem prejudicar a eficiência microbiana devido ao custo metabólico de síntese e excreção da uréia a partir do N em excesso (RUSSEL et al., 1983; KOLVER et al., 1998), que deixa de ser direcionado para a síntese de proteína microbiana. Soder e Gregorini (2010) trabalharam com fermentadores de cultura contínua, avaliando 4 níveis de PB no concentrado de dieta contendo 40% de concentrado e 60% de forragem (orchardgrass e trevo branco) e observaram prejuízos na síntese microbiana quando a concentração de N amoniacal no rúmen foi maior que 19 mg dL^{-1}.

Um dos motivos que torna tão complexo o entendimento do balanço de N no rúmen é a reciclagem de N. Os ruminantes têm elevada capacidade de ajustar a quantidade de N reciclado de acordo com o aporte de N dietético. Estudos recentes têm buscado identificar indicadores que reflitam a situação de equilíbrio ruminal de N, isto é, quando a entrada de N no rúmen via reciclagem se iguala a absorção de N amoniacal. Os resultados obtidos até o presente momento indicam que o rúmen encontra-se em balanço de N zero quando a concentração de amônia ruminal é de 7 mg dL^{-1} (BRODERICK; HUHTANEN, 2007; VAN AMBURGH et al., 2010), o teor de PB da dieta é de 14,7% e o teor de PDR é de 10,6% (BRODERICK, 2010).

As concentrações de acetato (C2), propionato (C3) e butirato (C4) não foram afetadas pelos tratamentos (tabela 17), indicando que não houve resposta em aumento de degradação ruminal dos alimentos com o acréscimo de proteína bruta no concentrado. Por conseqüência, a relação acetato:propionato também não sofreu efeito do acréscimo de PB no concentrado. Dessa forma, fica evidente que a dieta com concentrado energético (T1) forneceu PB, proveniente do pasto, suficiente para maximizar a atividade fermentativa dos microrganismos ruminais.

As concentrações dos ácidos graxos de cadeia ramificada, isobutírico (IC4) e isovalérico (IC5), apesar de não terem sido detectadas diferenças estatísticas, acompanharam numericamente os teores de PB dos concentrados com milho e farelo de soja e atingiram seus níveis mínimos no tratamento com uréia. O acréscimo de proteína verdadeira degradável no rúmen, decorrente da inclusão de farelo de soja na dieta, aumenta a deaminação de aminoácidos e, conseqüentemente, a produção de ácidos graxos de cadeia ramificada (CUNNIGHAM et al., 1996; SANNES et al., 2002), o

que pode, por sua vez, melhorar a degradação de fibra (MISRA, THAKUR, 2001). O mesmo comportamento não é observado com a inclusão da uréia devido a ausência de aminoácidos nesta fonte de nitrogênio.

Corroborando com todos os resultados apresentados até o momento, tanto no experimento de desempenho quanto de parâmetros ruminais, o aumento de PB da dieta não proporcionou aumento na produção de proteína microbiana (tabela 17), confirmando que a quantidade de PB existente na dieta de pasto e concentrado energético (T1) foi suficiente para que os microrganismos se desenvolvessem satisfatoriamente, atendendo as exigências de proteína metabolizável desse tipo de animal. Os tratamentos com maior aporte de nitrogênio (T2, T3 e T4) provavelmente provocaram maior desbalanço energia:proteína na dieta e, dessa forma, pior utilização do N dietético para síntese microbiana (MCORMICK et al., 2001; BARGO et al., 2003)

Diferente do que ocorreu no experimento de desempenho, os valores de proteína microbiana do experimento 2 ficaram próximos às estimativas calculadas pelo NRC (2001), provavelmente em virtude dos animais utilizados no experimento 2 (vacas holandesas de grande porte) serem mais semelhantes àqueles utilizados no desenvolvimento dos coeficientes utilizados nas fórmulas para estimativa de síntese microbiana do que as vacas do experimento 1.

O nitrogênio não utilizado no rúmen para síntese microbiana foi absorvido pelo epitélio ruminal, na forma de amônia, e lançado na corrente sanguínea, aumentando os teores de nitrogênio uréico no plasma (NUP). Por isso, existe elevada correlação entre valores de N amoniacal no rúmen e NUP (HUHTANEN; HRISTOV, 2009). Apesar de não ter sido significativamente diferente entre os tratamentos, o NUP acompanhou o comportamento da concentração de N amoniacal no fluido ruminal, isto é, foi crescente até o nível de 18,1% PB (tratamento 3) no concentrado e depois decresceu no tratamento 4 até nível próximo ao observado no tratamento 2, ambos com 13,4% PB.

4.2.4 Consumo de matéria seca

Os dados de consumo de pasto, de matéria seca total, de nitrogênio foram calculados a partir da produção diária de fezes e estão apresentados na tabela 18. A produção de fezes estimada pelos marcadores LIPE® e óxido de cromo foram

diferentes significativamente (P < 0,01), apresentando valores médios de 3,99 e 5,07 kg d^{-1}, respectivamente. Por isso, na tabela 18 são apresentados os valores calculados a partir dos dois marcadores.

Tabela 18 – Consumo de pasto, de MS, de N de animais recebendo níveis crescentes de proteína no concentrado e diferentes fontes de N dietético, calculados com a utilização dos marcadores LIPE® ou cromo

Parâmetro	**T1 (8,7%PB)**	**T2 (13,4%PB)**	**T3 (18,1%PB)**	**T4 (13,4%PB)**	**EPM**
CMSp[1] lipe, kg d^{-1}	7,92b	8,03b	7,86b	9,03a	0,23
CMSp cromo, kg d^{-1}	10,51ab	9,51b	10,53ab	13,45a	0,70
CMSp lipe, %PV d^{-1}	1,16b	1,20b	1,15b	1,32a	0,07
CMSp cromo, %PV d^{-1}	1,56ab	1,43b	1,55ab	1,95a	0,18
CMSt[2] lipe, kg d^{-1}	12,92b	13,03b	12,86b	14,03a	0,23
CMSt cromo, kg d^{-1}	15,51ab	14,51b	15,53ab	18,45a	0,70
CMSt lipe, %PV d^{-1}	1,90b	1,94b	1,89b	2,06a	0,12
CMSt cromo, %PV d^{-1}	2,30ab	2,18b	2,29ab	2,69a	0,23

[1]CMSp: consumo de matéria seca de pasto; [2]CMSt: consumo de matéria seca total
Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com P<0,05

O consumo calculado com o marcador LIPE® foi mais próximo do estimado pelo NRC (2001), de aproximadamente 12 kg MS dia^{-1}, do que o calculado com o óxido de cromo, provavelmente devido à superestimativa da produção fecal decorrente da recuperação incompleta do cromo nas fezes. Por isso, a discussão que segue está baseada nos dados de consumo obtidos com o uso do marcador LIPE®.

O tratamento 4 (13,4% PB com uréia) apresentou o maior valor de consumo de pasto. Teoricamente, esse aumento no consumo poderia ter ocorrido em função de maior degradação da fibra proporcionada por maior aporte de PDR proveniente da uréia. Entretanto, essa maior degradação não se confirma pelas concentrações de AGCC e N amoniacal no fluido ruminal, tampouco pelos dados de cinética de degradação ruminal da FDN, que serão discutidos no tópico 4.3.

Esse comportamento foi inesperado, uma vez que o efeito mais comum da inclusão de uréia em doses maiores de 1% no concentrado é a depressão do consumo (KERTZ et al., 2010). A redução do consumo observada para dietas com uréia foi inicialmente atribuída ao seu sabor, uma vez que infusões ruminais e abomasais não

provocaram a queda de ingestão observada no fornecimento de mesma dose de uréia no coxo (HUBER; COOK 1972). Entretanto, diversos estudos posteriores avaliaram a reação das vacas ao odor ou sabor da uréia e concluíram que, apesar da rejeição inicial, especialmente ao odor de amônia, isso não foi um fator determinante da redução de consumo nas dietas com uréia, também observada nesses trabalhos (KERTZ et al., 1977, 1982).

Trabalhos subseqüentes compararam infusões ruminais contínuas ou pontuais, em diferentes níveis de inclusão de uréia, com e sem adaptação dos animais, e concluíram que intermediários metabólicos do catabolismo de uréia no rúmen teriam papel na depressão de consumo observada em níveis de inclusão maiores do que 1% (WILSON et al. 1975). A amônia precisa estar em sua forma ionizada para ser absorvida pelo rúmen (NH_4^+). A ionização decorre da adição de uma molécula de H para cada molécula de amônia, portanto quanto mais ácido o ambiente ruminal, maior a porção da amônia na forma iônica. Assim, dependendo da quantidade de amônia a ser ionizada após a alimentação do animal, o pH ruminal pode subir ou ter sua queda minimizada pela utilização dos íons H^+ para a ionização da amônia. Além disso, o pH ruminal próximo da neutralidade favorece a absorção da amônia pela parede ruminal (VISEK, 1968; SMITH, 1975; BARTLEY et al., 1976). Portanto, em dietas em que o pH ruminal seja mantido acima de 6, a inclusão de mais de 1% de uréia no concentrado pode provocar elevação do pH ruminal e aumentar a absorção de amônia, sinalizando ao animal possível situação de toxidez e provocando redução de consumo (KERTZ et al., 1982).

No presente experimento, os valores de pH ruminal foram bastante semelhantes e não houve nenhum tratamento que permaneceu superior ou inferior aos outros constantemente. A maior concentração de amônia no tratamento 3 poderia explicar o menor valor numérico de consumo de pasto neste tratamento. Entretanto, os valores obtidos neste estudo, de 13,7 mg dL^{-1}, foram muito inferiores aos observados nos estudos que concluíram sobre a possível sinalização de toxicidade da amônia (média de 26 mg dL^{-1}), o que não suportaria esta hipótese. Portanto, as razões do comportamento da variável consumo de pasto permanecem desconhecidas e podem estar relacionadas à interação entre os efeitos de animal e período experimental.

4.2.5 Excreção de nitrogênio nas fezes e na urina

Após cair na corrente sanguínea e ser transformado em uréia no fígado, o nitrogênio excedente é reciclado para o rúmen ou excretado para o ambiente por meio das fezes e urina. Da mesma forma que no experimento de desempenho, a excreção de nitrogênio nas fezes não foi alterada pelo teor de proteína do concentrado (tabela 19), corroborando com os dados da literatura (PEYRAUD; ASTIGARRAGA, 1998; CASTILLO et al. 2001; MULLIGAN et al., 2004; MARINI; VAN AMBURGH, 2005; OLMOS-COLMENERO; BRODERICK, 2006; ZANTON; HEINRICHS, 2007) e com o que foi discutido anteriormente (tópico 4.1.4 deste trabalho). Sendo assim, conforme o consumo de N aumentou em decorrência do acréscimo de PB nos concentrados, a proporção do N consumido eliminada nas fezes comportou-se de forma inversamente proporcional (tabela 19).

Tabela 19 – Excreção de nitrogênio nas fezes e urina de animais recebendo níveis crescentes de proteína no concentrado e diferentes fontes de N dietético

Parâmetro	**T1 (8,7%PB)**	**T2 (13,4%PB)**	**T3 (18,1%PB)**	**T4 (13,4%PB)**	**EPM**
N consumido[1], g dia^{-1}	**304,14c**	**344,98b**	**377,53a**	**374,52ab**	**6,94**
N fezes, %	2,62	2,67	2,63	2,57	0,06
N fezes, g dia^{-1}	117,29	118,77	115,25	113,99	2,37
N urina, %	5,08	6,15	7,31	6,55	0,89
N urina, g	89,36	125,95	131,88	132,00	13,063
N total, g dia^{-1}	206,65	244,73	249,74	245,94	10,33
Nfezes/Ncons, %	**38,59a**	**34,5b**	**30,5c**	**30,4c**	**0,69**
Nurina/Ncons, %	29,27	36,41	36,69	35,23	3,19

[1]Consumo de N calculado a partir da estimativa de consumo de pasto com o uso do marcador LIPE
Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com P<0,05

Apesar da ausência de significância estatística, a concentração de nitrogênio na urina acompanhou o teor de PB nos tratamentos e foi crescente até o T3 (18,1%PB) e depois foi reduzida no T4 (13,4%PB) a valor próximo ao do T2 (13,4%). A quantidade de N excretada (g d^{-1}) também apresentou diferenças numéricas entre os tratamentos, entretanto não significativas, devido à grande variabilidade de valores de volume diário

de urina, decorrente provavelmente das diferenças de peso vivo entre as vacas utilizadas.

A participação do N consumido eliminada na urina também foi numericamente maior nos concentrados com acréscimo de N suplementar (T2, T3 e T4). O valor médio de 34,5% para essa variável está bem mais próximo dos valores encontrados na literatura, que variaram entre 27% (BARGO et al., 2002) e 50% (MULLIGAN et al., 2004) do que os resultados obtidos para o experimento 1. Isso provavelmente se deve ao fato da coleta de urina do experimento 2 ter sido feita duas vezes ao dia, por 3 dias consecutivos, tornando a amostra composta mais representativa da variação de excreção de N na urina ao longo do dia.

4.2.6 Ganho de peso e escore de condição corporal (ECC)

Os animais utilizados neste experimento apresentaram grande variação no peso inicial (721, 779, 535, 605 kg). Como uma das vacas estava bastante magra (535 kg) e uma estava obesa (779 kg), isso causou enorme variabilidade nos dados de ganho de peso que, apesar da grande diferença numérica, esta não foi detectada pela análise estatística. Portanto, o ganho de peso diário não diferiu significativamente entre os tratamentos e teve valores médios de 487, 1.005, 969 e 692 g/d para os tratamentos 1, 2, 3 e 4 respectivamente.

Na tentativa de proporcionar ambiente ruminal semelhante ao das vacas do experimento 1, a quantidade oferecida de concentrado para as vacas do experimento 2 foi superior às exigências de vacas secas e vazias, fazendo com que elas ganhassem muito peso e aumentasse muito o ECC. As vacas ganharam em média 0,635 unidade de ECC durante o período experimental e a variação entre tratamentos não foi detectada pela análise estatística.

4.3 Experimento 3

Os dados de cinética de degradação ruminal da MS, FDN e PB do capim estão apresentados na tabela 20. Com base nos dados de desempenho do experimento 1 pode-se afirmar que o suprimento de proteína metabolizável no tratamento 1 não limitou a produção de leite das vacas. Com base nos dados de síntese microbiana dos

experimentos 1 e 2, ficou claro que a dieta do tratamento 1 (pasto e concentrado energético) supriu proteína degradável no rúmen suficiente para maximização da síntese microbiana. Também no experimento 2, os dados de concentração molar de AGCC não indicaram ter havido limitação de proteína degradável para a otimização da fermentação ruminal. Portanto, não era esperado encontrar diferenças na cinética de degradação das entidades nutricionais MS, FDN e PB entre os tratamentos. A importância deste ensaio é muito maior na caracterização mais precisa da planta forrageira tropical manejada intensivamente, de modo que esses dados possam ser utilizados para abastecer as bibliotecas dos programas de formulação de rações e, com isso, melhorar suas predições de desempenho.

O aumento no teor de proteína no concentrado não afetou a cinética ruminal da MS do capim, que apresentou valores médios de 27,67, 55,92 e 16,38% para as frações solúvel (A), potencialmente degradável (B) e indisponível (C), respectivamente. Esses valores corroboram com os estudos realizados anteriormente na mesma área, com o mesmo capim. Martinez (2008) observou valores de 26,47, 56,43 e 17,08% para as frações A, B e C, respectivamente, do pasto manejado no verão e outono, com intervalos de pastejos fixos de 23 dias e adubação nitrogenada na dose de 80 kg N ha^{-1} por ciclo de pastejo. Apesar da tentativa do autor em controlar o crescimento da planta forrageira com ID menor (23 x 28 dias) que no presente estudo, a altura de entrada nos pastos foi superior ao recomendado de 1,03 m para o capim elefante cv Cameron.

Romero (2008) comparou a cinética ruminal do capim elefante cv Cameroon sob dois manejos de desfolha, intervalo fixo (27 dias) e variável (de acordo com altura correspondente a 95% de IL) e não observou diferenças entre os tratamentos para as frações A, B e C, que apresentaram valores médios de 27,69, 57,75 e 14,65%, respectivamente. Os valores também foram muito semelhantes aos encontrados por Martinez (2008) e no presente estudo. Esses resultados confirmam também o que foi observado na discussão do fracionamento químico da PB (SNIFFEN et al., 1992) em relação a alta capacidade seletiva dos animais, que faz com que as diferenças entre materiais colhidos na forma de pastejo simulado sejam muito pequenas, quando os pastos são bem manejados, havendo diferenças menores de ajustes finos entre eles.

A taxa de degradação da fração B (kd) da MS também não foi afetada pelos tratamentos e o valor médio observado foi 4,54% h^{-1}, um pouco superior ao observado nos trabalhos anteriores nesta mesma área, de 4,28% (ROMERO, 2008) e 3,79% (MARTINEZ, 2008). Apesar da pequena diferença numérica, do ponto de vista biológico, o acréscimo de 0,5 unidade percentual na taxa de degradação da fração B pode significar aumento de 2% na degradabilidade efetiva, valor que aumenta ainda mais quanto maior a taxa de passagem. A diferença nos valores de kd da MS podem ser conseqüência das diferenças na composição bromatológica das plantas e, portanto, será melhor compreendida com a avaliação das degradações de FDN e PB.

A degradabilidade potencial (DP) da MS, de 83,5% na média dos 4 tratamentos, representa todo material que poderia ser degradado no rúmen se permanecesse nele por tempo suficiente, no caso deste trabalho, por 120 horas. No entanto, dificilmente o alimento fica por tanto tempo nesse compartimento digestivo e, portanto, sua degradabilidade efetiva será sempre menor. Pelo mesmo motivo a digestibilidade *in vitro* da MS, calculada pela incubação do material em fluido ruminal por 48 horas, foi menor do que a DP do mesmo material (75,9% contra 83,5%). Aplicando-se a fórmula da DP de Orksov e McDonald (1979) sobre este conjunto de dados, com o tempo (t) de 48 horas, o resultado é um desaparecimento de 75,3%, valor muito próximo ao observado no ensaio *in vitro*.

As degradabilidades efetivas (DE) apresentadas na tabela 20 foram calculadas utilizando-se as taxas de passagem de 2, 5 e 8% h^{-1}. Martinez (2008) estimou a taxa de passagem do capim elefante, por meio dos marcadores cobalto-EDTA e itérbio, e encontrou valores médios de 3,66% h^{-1}. Aplicando-se este valor ao kp da fórmula da DE (equação 8), obtém-se o valor médio de 58,5% de desaparecimento ruminal. O teor médio de MSi das amostras de pastejo simulado do capim elefante do presente estudo foi de 20,46%. Isso significa que 79,54% da matéria seca ingerida desapareceram no trato gastrointestinal. Assumindo desaparecimento de 58,5% no rúmen, pode-se inferir que os outros 21% foram digeridos no intestino.

Tabela 20 – Cinética de degradação ruminal da MS, FDN e PB de amostras de pastejo simulado de capim elefante em animais recebendo níveis crescentes de proteína no concentrado e diferentes fontes de N dietético

Parâmetro	T1 (8,7%PB)	T2 (13,4%PB)	T3 (18,1%PB)	T4 (13,4%PB)	EPM
MS					
A, %	27,72	28,47	26,54	27,95	0,41
B, %	55,36	55,76	57,19	55,39	0,83
C, %	16,91	15,76	16,30	16,55	0,49
kd[1], % h^{-1}	4,68	4,25	4,28	4,96	0,42
Lag, h	3,86	5,35	2,27	6,00	0,82
DP[2], %	83,08	84,24	83,70	83,34	0,49
DE2[3], %	66,40	66,23	65,40	67,08	0,84
DE5[4], %	54,39	53,96	52,83	55,22	1,18
DE8[5], %	48,08	47,72	46,40	48,90	1,18
FDN					
B, %	66,80	67,39	66,61	69,53	1,01
C, %	**20,32a**	**18,64b**	**19,75ab**	**19,09ab**	0,36
kd[1], %/h	5,04	4,41	4,94	4,41	0,29
Lag, h	4,91	6,42	4,8	4,82	0,60
DP[2], %	66,80	67,39	66,61	69,53	1,00
DE2[3], %	47,75	46,2	47,32	47,79	0,84
DE5[4], %	33,46	31,46	32,94	32,55	0,95
DE8[5], %	25,76	23,87	25,31	24,68	0,89
PB					
A, %	27,74	27,65	27,58	29,05	0,97
B, %	64,67	65,92	64,76	63,96	1,02
C, %	**7,59a**	**6,43b**	**7,49ab**	**6,98ab**	0,24
kd[1], %/h	4,59	4,09	4,50	4,61	0,32
Lag, h	1,86	1,26	1,54	3,10	0,59
DP[2], %	**92,41a**	**93,57b**	**92,51ab**	**93,01ab**	0,24
DE2[3], %	72,6	71,69	72,44	73,52	1,17
DE5[4], %	58,51	57,12	58,29	59,61	1,53
DE8[5], %	51.17	49.81	50.94	52.33	1,56

[1]kd: taxa de degradação da fração B; [2]DP: degradabilidade potencial; [3]DE2: degradabilidade efetiva (DE) na taxa de passagem (kp) de 2%/h; [4]DP5: DE na kp de 5%/h; [5]DP8: DE na kp de 8%/h
Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com $P<0,05$

O período de latência discreta (lag time) consiste no tempo em que os microrganismos ruminais colonizam o alimento e penetram suas barreiras físicas, antes de efetivamente começarem a degradá-lo (McALLISTER, 1994). O lag time da MS não foi afetado pelos tratamentos e apresentou valor médio de 4,37 horas, valor muito inferior ao obtidos pelos experimentos de Martinez (2008), de 15,8 horas, e de Romero (2008), de 12,5 horas. Como a composição bromatológica do material incubado nos 3 trabalhos foi muito semelhante, assim como os demais parâmetros de cinética ruminal, a diferença entre os valores de lag time decorre, provavelmente, de diferentes metodologias de cálculos. Os autores citados realizaram os cálculos de forma manual, inserindo todos os comandos no programa Excel, enquanto que no presente estudo, os parâmetros foram estimados pelo PROC NLIN do pacote estatístico SAS (2003). O valor obtido no presente trabalho corrobora com os de Vieira et al. (1997), que observaram valores de lag time da MS entre 2,5 e 3,3 horas, para capim elefante cv Mineiro cortado com diferentes idades, e com os de Vendramini et al. (2008), cujos valores encontrados variaram entre 5,7 e 6,3 horas para Tifton 85 com doses crescentes de adubação nitrogenada. Por outro lado, valores de 14,1 (BROWN; PITMAN, 1991) e 9 horas (NEWMAN et al., 2002) também são encontrados na literatura.

Os dados de degradação de FDN não apresentam fração A, uma vez que, conceitualmente, o FDN não possui fração solúvel e, por isso, o modelo utilizado para o ajuste dos parâmetros não lineares não contemplou essa fração. O material que desapareceu no tempo 0 foi considerado perda de lavagem. Apesar da diferença estatística observada para a fração C de FDN, as diferenças foram de pequena magnitude do ponto de vista nutricional. Os outros parâmetros não foram afetados pelos tratamentos, confirmando a conclusão de que a disponibilidade de proteína degradável no rúmen no tratamento energético não limitou a digestão da FDN.

Apesar do material incubado neste experimento ter apresentado teores de FDN (58,7%) e de lignina (2,63%) menores do que os observados por Romero (2008) (63,1 e 2,92%, respectivamente), a fração C foi semelhante entre os dois trabalhos e a fração B foi menor para o presente trabalho, com valor médio de 67,58%, em comparação aos 75% observados por Romero (2008). Isso provavelmente foi decorrente da maior perda

de lavagem observada neste experimento, em relação ao que Romero (2008) classificou como fração A. Por outro lado, Martinez (2008) incubou amostras de pastejos simulado de capim elefante com 61,9% de FDN e 2,74% de lignina, valores ligeiramente superiores aos deste experimento, o que, provavelmente, refletiu na pequena superioridade na fração C, cujo valor médio observado foi de 22%.

Vieira et al. (1997) avaliaram a degradação in situ de capim elefante cv Mineiro cortado em diferentes idades e observaram que a idade da planta foi positivamente correlacionada com sua fração indigestível, bem como com seus teores de FDN e FDA. Entretanto, os autores coletaram as amostras ao nível do solo, o que inclui no material incubado frações de colmos que, em situação de pastejo, não seriam ingeridas pelo animal. Como já foi mostrado neste trabalho, a seleção do material ingerido realizada pelo animal minimiza as diferenças na composição da planta em decorrência de diferentes manejos.

As degradabilidades de FDN (tabela 20), tanto potencial quanto efetiva, foram mais baixas do que as observadas nos trabalhos da literatura que consideram o material desaparecido no tempo 0 como fração A e não como perda de lavagem (MARTINEZ, 2008; ROMERO, 2008). Trabalhos que utilizaram modelos de degradação sem fração A para FDN apresentam valores mais baixos de degradabilidade efetiva, da ordem de 22 a 34% (VIEIRA et al., 1997; LIRA et al., 2006).

Os valores de kd e lag time de FDN são muito importantes na caracterização da planta forrageira pois interferem diretamente no tempo que o alimento permanecerá dentro do rúmen, causando efeito de enchimento e limitando o consumo de MS. Os programas de predição de desempenho geralmente utilizam modelos de consumo que incluem dados de composição bromatológica do alimento e caracterização do FDN.

A proteína bruta do capim também não sofreu alterações de importância nutricional em sua cinética ruminal com o acréscimo de fontes de nitrogênio no concentrado. A diferença estatística detectada na fração C e, conseqüentemente, na DP (que consiste na soma de A+B, oposto de C), não é representativa do ponto de vista biológico. Os valores das frações A, B e C corroboram com o fracionamento obtido pelo método químico. A diferença na fração C (6,5% no ensaio “in situ” contra 4,8% no

químico) é, provavelmente, decorrente da contaminação microbiana no resíduo de 120h de incubação ruminal.

Considerando a taxa de passagem calculada por Martinez (2008), de 3,66% h^{-1} para calcular a DE da PB do capim, obtém-se o valor de 63,38%, bem inferior aos 81-85% encontrado na biblioteca do NRC (2001) para capins tropicais. Ou seja, dos 18,5% PB do capim utilizado neste experimento, 11,7% estavam na forma de PDR e 6,8% como PNDR. Mais estudos ainda são necessários para determinar a digestibilidade intestinal e o perfil de aminoácidos dessa PNDR.

É importante enfatizar que os ensaios *in situ* para determinação de cinética ruminal devem ser analisados com cautela, uma vez que seus resultados são dependentes de diversos fatores que variam muito entre experimentos. A começar pela forma de amostragem da planta, que pode ser ao nível do solo ou a uma determinada altura. O tempo máximo de incubação é determinante, uma vez que determina a fração C do material. Muitas vezes, o último tempo é ainda insuficiente para o desaparecimento de todo material potencialmente degradável, principalmente os trabalhos que tomam como modelo ensaios realizados com plantas temperadas, de degradação mais rápida, o que acaba superestimando a fração C e subestimando as degradabilidades potencial e efetiva. A metodologia de cálculo também é muito variável e, geralmente, pouco explicada nos trabalhos.

Portanto, para que se pudesse montar um banco de dados realmente confiável com a caracterização detalhada de plantas forrageiras tropicais manejadas intensivamente, com objetivo de melhorar as predições feitas pelos programas, o primeiro passo deveria ser a padronização da metodologia para obtenção dos dados, incluindo as análises laboratoriais dos resíduos.

5 CONCLUSÕES

Com os dados obtidos no estudo de desempenho, é possível concluir que vacas HPB e mestiças HPB x Jersey, no terço médio da lactação, produzindo em média 20 kg dia^{-1}, mantidas em pastagens tropicais com 18,5% de PB, não respondem ao aumento de PB no concentrado, via farelo de soja, em comparação ao fornecimento exclusivo de milho. Nesse caso, o acréscimo de fonte de nitrogênio no concentrado resulta em maior excreção de nitrogênio no ambiente, na forma de NUL e N urinário, indicativos de redução da eficiência de utilização do nitrogênio dietético.

De acordo com o estudo de metabolismo animal, em pastos de capim elefante cv Cameron bem manejados e com 18,5% de PB, para animais recebendo as doses de concentrado utilizadas no presente estudo, nenhum parâmetro capaz de melhorar o desempenho de vacas em lactação, como pH ruminal, concentração de AGCC no rúmen, síntese de proteína microbiana e degradação da fração fibrosa do pasto sofre efeito do aumento no teor de PB do concentrado, via adição de farelo de soja ou uréia ao milho. O que se observa, na realidade, é aumento nas concentrações de $N\text{-}NH_3$ no fluido ruminal e de N na urina, indicando mais uma vez, aumento nas perdas de N e redução na eficiência de uso deste nutriente pela vaca leiteira.

Pastagens de capim elefante adubadas com doses altas de N, apresentam teores elevados de PB, sendo 79% dela representada por proteína verdadeira. A taxa de degradação ruminal da fração B dessa proteína é baixa, ao redor de 4,5% h^{-1}. Assumindo taxa de passagem da forragem de 3,66% h^{-1}, a DE da PB do capim é de 63,38%, o que é interessante, pois permite se trabalhar com adubações N elevadas e conseqüentemente com teores elevados de PB na forragem, sem que isso resulte em concentrações excessivas de $N\text{-}NH_3$ no rúmen, principalmente quando o animal é suplementado com fontes ricas em energia fermentável. A passagem estimada de quase 40% da PB da forragem para o intestino reforça a necessidade de estudos para determinar a digestibilidade intestinal e o perfil de aminoácidos dessa PNDR.

REFERÊNCIAS

Agricultural Research Council. **The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock.** Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, England, 1984. 351p.

AGUILAR-PÉREZ, C.; KU-VERA, J.; CENTURIÓN-CASTRO, F.; GARNSWORTH, P.C. Energy balance, milk production and reproduction in grazing crossbred cows in the tropics with and without cereal supplementation. **Livestock Science,** Amsterdam, v.122, p.227-233, 2007.

ALLEN, S.A.; MILLER, E.L. Determination of nitrogen requirement of microbial growth from the effect of urea supplementation of a low N diet on abomasal N flow and N recycling in wethers and lambs. **British Journal of Nutrition,** Oxford, v.36, p.353-364, 1976.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 12nd ed., Washington, D.C. 1990. 1313p.

ASSIS, M.A.; SANTOS, G.T.; CECATO,U.; DAMASCENO,J.C.; PETIT, H.V.; BETT,V.; GOMES, L.H.; DANIEL, M. Degradabilidade in situ de gramíneas do gênero Cynodon submetidas ou não a adubação nitrogenada. **Acta cientiarum**, Maringá, v. 21, p.657-663, 1999.

Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Relatório estatístico de produção, importação e comercialização de sêmen**. 2009. Disponível em http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2009.pdf. Acesso em: 20 jul. 2010.

ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición del consumo de ruminantes en pastoreo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. **Anais**... Maringá:Universidade Estadual de Maringá, 1997. p. 1-23.

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

BALSALOBRE, M.A.A. **Valor alimentar do capim Tanzânia irrigado**. 2002. 113 p. Tese (Doutorado Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BARGO, F.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T. W. Milk Response to Concentrate Supplementation of High Producing Dairy Cows Grazing at Two Pasture Allowances. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.85, p.1777–1792, 2002.

BARGO, F.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 86, p.1– 42, 2003.

BARTLEY, E.E.; DAVIDOVICH, A.D.G.; BARR, W.G.; GRIFFEL, W.; DAYTON, A.D.; DEYOE, C.W.; BECHTLE , R.M. Ammonia toxicity in cattle. I. Rumen and blood changes associated with toxicity and treatment methods. **Journal of Animal Science**, Albany, v.53, p.835-947, 1976.

BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; SAEBØ, A.; BAUMAN, V. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology,** Stanford, v.278, p.179–184, 2000.

BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G.; GARCIA, A.V. Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição com ruminantes. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zoologia**, Umuarama, v.8, p. 205-211,2005.

BONAPARTE, T.P.; CHAMBELA NETO, A.; FERNANDES, A.M.; DERESZ, F.; VIEIRA, R.A.M.; DEMINICIS, B.B.Produção e composição do leite de vacas holandês x zebu manejadas em pastejo rotativo em gramíneas tropicais durante a época das chuvas. In: ZOOTEC 2007 - CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 17.; CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA, 9.; REUNIÃO NACIONAL DE ENSINO DE ZOOTECNIA, 13., 2007, Londrina. A zootecnia frente a novos desafios: **Anais...** Londrina: UEL/ ABZ, 2007. 1 CD-ROM.

BOUFAIED, H., CHOUINARD, P.Y.; TREMBLAY, G.F.; PETIT, V.; MICHAUD, R.; BELANGER, G. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. **Canadian Journal of Animal Science**, Toronto, v.83, p.501–511, 2003.

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

BRODERICK, G.; HUHTANEN, P. Application of milk urea nitrogen values.In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 2007. Syracuse **Proceedings**... Syracuse, 2007. p. 185-193.

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

BRODERICK, G.A.; HUHTANEN, P.; AHVENJÄRVI, S.; REYNAL, S.M.; SHINGFIELD, K.J. Quantifying ruminal nitrogen metabolism using the omasal sampling technique in cattle—A meta-analysis. **Journal of Dairy Science,** Lancaster , v. 93, p. 3216-3230, 2010.

BROWN, W.F.; PITMAN, W.D. Concentration and degradation of nitrogen and fibre fractions in selected tropical grasses and legumes. **Tropical Grassland**, Melbourne,v.25, p.305-312,1991.

CABRAL, L.S. da; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M.; LANA, R.P. de; COELHO DA SILVA, J.F.; VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, E.S. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 2087-2098,2000.

CABRAL, L.S. da; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M.; LANA, R.P. de; COELHO DA SILVA, J.F.; VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, E.S. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 2087-2098, 2000.

CAMARGO, A. C. Produção de leite a pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 13., 1996, Piracicaba. **Anais…**Piracicaba: FEALQ, p. 352, 1996.

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

CARVALHO, P.C.F.; TRINDADE, J.K. ; SILVA, S.C., BREMM, C.; MEZZALIRA, J.C.; NABINGER, C.; AMARAL, M.F.;CARASSAI, I.J.; MARTINS, R.S.; GENRO, T.C.M.; GONÇALVES, E.N.; AMARAL, G.A.; GONDA, H.L.; POLI, C.H.E.C.; SANTOS, D.T. Consumo de forragem por animais em pastejo: analogias e simulações em pastoreio rotativo. In: SILA CARNEIRO DA SILVA, CARLOS GUILHERME SILVEIRA PEDREIRA, JOSE CARLOS DE MOURA, VIDAL PEDROSO DE FARIA. (Org.). **Intensificação de Sistemas de Produção Animal em Pasto**. Piracicaba: FEALQ, 2009. p. 61-94.

CASALI, A.O. **Procedimentos metodológicos in situ na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. 2006. 58p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CASTILLO, A R.; KEBREAB, E.; BEEVER, D.E., BARBI, J.H.; SUTTON, J.D.; KIRBY, H.C.; FRANCE, J. The effect of protein supple- mentation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage based diets. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, p.247–253, 2001.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Londres, v.8, p.130-132, 1962.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details.IN: **Bucksburnd: Rowett Research Institute; International Feed Resources Unit**, 1992. 21p.

CHILIBROSTE, P.S.; TAMMINGA, S.; BOER, H.; GIBB, M.J.; DEN DIKKEN, G. Duration of regrowth of ryegrass (*Lolium perenne*) effects on grazing behavior, intake, rumen fill, and fermentation of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, Savoy, v.83, p.894-902, 2000.

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES. R.F.D.; CHIZZOTTI, F.H.M.; TEDESCHI, L.O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science,** Madison, v.113, p.218-225, 2008.

CLANTON, D.C. A comparison of 7- and 10-day collection periods in digestion and metabolism trials using harnesses with beef heifers. **Journal of Animal Science,** Albany, v. 20, p.640-646, 1961.

CORSI, M. Potencial das pastagens para a produção de leite. In: PEIXOTO, A. M.; et al, (ed.). **Bovinocultura Leiteira:** fundamentos da exploração racional. Piracicaba: FEALQ, 1986. p. 147-154.

CORSI, M.; NUSSIO L. G. Manejo do capim elefante: correção e adubação do solo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 10, 1993, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1993. p. 87-116.)

COSTA, D.F.A**. Respostas de bovinos de corte à suplementação energética em pastos de capim-Marandu submetidos a intensidades de pastejo rotativo durante o verão.** 2007. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007

COUVREUR, S.; HURTAUD, C.; LOPEZ, C.; DELABY, L.; PEYRAUD, J.L. the linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet, milk fatty acid composition, and butter properties. **Journal of Dairy Science,** Albany, v.89, p.1956-1969, 2006.

CUNNINGHAM, K. D.; CECAVA, M. J.; JOHNSON, T. R.; LUDDEN, P. A. Influence of source and amount of dietary protein on milk yield by cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign,v.79, p.620–630, 1996.

DA SILVA, S.C.; NASCIMENTO JR, D. Ecofisiologia de plantas forrageiras. In: III SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM - SIMFOR, 2006, Viçosa, MG. **Anais…** Viçosa, 2006. p. 01-42

DAVISON, T.M.; MARSCHKE, R.J.; BROWN, G.W. Milk yields from feeding maize silage and meat-and-bone meal to Friesian cows grazing a tropical grass and legume pasture. **Australian Journal of Experimental Agriculture,** v.22, p.147-154, 1982.

DAVISON, T.M.; ELLIOTT, R. Response of lactating cows to grain-based concentrates in northern Australia. **Tropical Grasslands**, Brisbane**,**v.27, p. 229-237, 1993.

DERESZ, F. Produção de leite de vacas mestiças holandês x zebu em pastagem de capim-elefante, manejada em sistema rotativo com e sem suplementação durante a época das chuvas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 197-204, 2001.

ELGERSMA, A.; ELLEN,G.; VAN DER HORST, H.; BOER,H.; DEKKER, P. R.; . TAMMINGA, S. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.117, p.13–27, 2004.

ELIZALDE, J.C.; SANTINI, F.J.; PASINATO, A.M. The effect of stage of harvest on the processes of digestion in cattle fed winter oats indoors. 1. Digestion of organic matter, neutral detergent fibre, and water-soluble carbohydrates. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.47, p.201–211, 1994.

ELIZALDE, J.C.; SANTINI, F.J.; PASINATO, A.M. The effect of stage of harvest on the processes of digestion in cattle fed winter oats indoors. 2. Nitrogen digestion and microbial protein synthe- sis. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdan, v.63, p.245–255, 1996.

EMMICK, D.L. **Foraging behavior of dairy cattle on pastures**. 2007. 123p. Tese de (Doutorado) - . Utah State University, Logan. 2007.

ERDMAN, R.A.; PROCTOR, G.H.; VANDERSALL, J.H. Effect of rumen ammonia concentration on in situ rates and extent of digestion of feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, p.2312- 2320, 1986.

ERWIN, W.S.; MARCO, D.G.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.44, p.1766-1771, 1961.

FERLAY, A.; MARTIN, B.; PRADEL, P.H.; COULON, J.B.; CHILLIARD, Y. Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in Tarentaise and Montbeliarde cow breeds. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 89, p.4026–4041,2006.

FIKE, J.H. ; STAPLES, C.R.; SOLLENBERGER, L.E.; MACOON, B.; MOORE, J.E. Pasture forages, supplementation rate, and stocking rate effects on dairy cow performance. **Journal of Dairy Science,** Lancaster, v.86, p.1268–1281, 2003.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Anualpec 2010**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2010. 400 p.

FONTANELI, R.S. **Produção de leite de vacas holandesas em pastagens tropicais perenes no planalto médio do rio grande do sul.** 2005. 175 p. Tese (Doutorado em Plantas Forrageiras) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

FUKUMOTO, N.M. **Desempenho produtivo de vacas holandês x zebu em pastagens de gramíneas tropicais sob lotação rotacionada.** 2007. 96p. Tese (Doutorado em Produção Animal), Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2007.

GARCIA, A.D.; LINN, J.G.; STEWART, S.C. OLSON, J.D.; OLSON, W.G. Evaluation of milk urea nitrogen (MUN) as a dietary monitor for dairy cows. **Journal of Dairy Science**., Albany, v.80, n. 1,p.161, 1997.Supplement.

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

GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; VICENTE, F. Purine Derivative Excretion in Dairy Cows: Endogenous Excretion and the Effect of Exogenous Nucleic Acid Supply. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.86, p.1282–1291, 2003.

GOZHO, G.N.; MUTSVANGWA, T. Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance, and microbial protein synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Savoy, v. 91, p.2726–2735, 2008.

GRANZIN, B.C.; GAUGHAN, J.B. The effect of sodium chloride supplementation on the Milk production of grazing Holstein Friesian cows during Summer and autumn in a humi sub-tropical enviroment. **Animal Feed Science and Technology,** Amsterdam, v.96, p. 147-160, 2002.

GRECO, L.F. **Suplementação de vacas HPB e vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagem tropical com o éster isopropílico do análogo de metionina (HMBi).** 2008. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

GREGORINI, P.; GUNTER, S.A.; BECK, P.A.; SODER, K.J.; TAMMINGA, S. The interaction of diurnal grazing pattern, ruminal metabolism, nutrient supply and management in cattle. **Professional Animal Scientist**, New York, v.24, p.308-320, 2008.

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**, Champaign, v.76, p.475-484, 1993.

HARDISON, W.A.; LINKONS, W.N.; ENGEL, R.W.; GRAF, G.C. Observations on the use of chromic oxide for estimating the fecal output of dairy animals. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.42, p.346-352, 1959.

HATTAN, G.L.; OWEN, F.G. Efficiency of total collection and chromic oxide techniques in short-term digestion trials. **Journal of Dairy Science,** Champaing, v.53, p.325-329,1969.

HECK, J.M.L.; VAN VALENBERG, H.J.F.; DIJKSTRA, J.; VAN HOOIJDONK, A.C. M.Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science,** Savoy, v. 92, p. 2991-3001, 2009

HODGSON, J. **Grazing management:** science into practice. Longman: Handbooks in Agriculture, 1990. 203 p.

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

HOLMES, C.W.; WILSON, G.F.; MACKENZIE, D.D.S.; FLUX, D.S.; BROOKES, I.M.; DAVEY, A.W.F. **Milk Production from Pasture**. Wellington, New Zealand: Butterworth Agriculture Books, 1987. 312p.

HUBER, J.T.; COOK, R.M. Influence of site of administration of urea on voluntary intake of concentrate by lactating cows. **Journal of Dairy Science,** Champaing, v.55, p.1470-1479, 1972.

HUBER, J.T.; COOK, R.M. Influence of site of administration of urea on voluntary intake of concentrate by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.55, p.1470-1477, 1972.

HUHTANEN, P.; HRISTOV A.N. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.92, p.3222–3232, 2009.

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

INSTITUITO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo agropecuário**. Disponível em: http://www.ibge.org.br. Acesso em: 28 mai 2010.

INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL (IFIC) FOUNDATION. 2008. **Food & Health Survey.** Consumer Attitudes toward Food, Nutrition & Health. Washington, D.C.: IFIC, 2008. 236p.

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**, Champaign, v.88, p.22-37, Supplement. 2005.

JOHNSON, C.R.; REILING, B.A.; MISLEVY, P.; HALL, M.B. Effects of nitrogen fertilization and harvest date on yield, digestibility, fiber, and protein fractions of tropical grasses. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, p.2439-2448, 2001.

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**, Champaign, v. 81, p.2681–2692,1998.

KAUFFMAN, A.J.; ST-PIERRE, N.R. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p.2284–2294,2001.

KERTZ, A.F.; BROCKETT, M.K.;DAVIDSON, L.E.; BETZ, N.L. Influence of ambient ammonia odor on acceptance of nonurea rations by lactating cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.60, p.788-796, 1977.

KERTZ, A.F.; KOEPKE, M.K.; DAVIDSON, L.E.; BETZ, N.L.; NORRIS, J.R.; SKOCH, L.V.; CORDS, B.R.; HOPKINS, D.T. Factors influencing intake of high urea-containing rations by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.65, p.587-592, 1982.

KERTZ, A.F. Review: Urea Feeding to Dairy Cattle: A Historical Perspective and Review, **The Professional Animal Scientist**, St. Louis, v.26, p.257–272, 2010 .

KOHN, R.A.; DOU, S.; FERGUSON, J.D.; BOSTON, R.C. A sensitivity analysis of nitrogen loss from dairy farms. **Journal of Environment Management,** New Orleans, v.50, p.417–428, 1997.

KOHN, R.A.; KALSCHEUR, K.F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science,** Lancaster, v. 85, p.227- 233, 2002.

KOLVER, E.S.; MULLER, L.D.; VARGA, G.A.; CASSIDY, T.J. Synchronization of ruminal degradation of supplemental carbohydrate with pasture nitrogen in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v. 81, p. 2017–2028, 1998.

KRISHNAMOORTHY, U.; SNIFFEN, C.J.; STERN, M.D.; VAN SOEST, P.J. Evaluation of mathematical model of rumen digestion and in vitro simulation of rumen proteolysis to estimate the rumen-undegraded nitrogen content of feedstuffs. **British Journal of Nutrition**, Oxford, v. 50, p. 555-568, 1983.

KRISHNAMOORTHY, U.C.; MUSCATO, T.V.; SNIFFEN, C.J.; VAN SOEST, P.J. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 65, p. 217-225,1982.

LACERDA, P.D.; MALAFAIA, P.A.M.; VIEIRA, R.A.M.; HENRIQUE, D.S.; VAN DER MADE, I. E.; FARIA, A.R.G. Variação anual da composição bromatológica de duas forrageiras cultivadas nas baixadas litorâneas do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.2, p.523-529, 2004.

LASSITER, J.W., ALLIGOOD, V.; MC-GAUGHEY, C.H. Chromic oxide as an index of digestibility of all-concentrate rations for sheep. **Journal of Animal Science,** Albany, v. 25, p.44-51, 1966.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures of nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 347-358, 1996.

LIRA, V.M.C., PEREIRA,J.C.; VIEIRA, R.A.M.; HENRIQUE, D.S.; LEONEL, F.P. Avaliação de marcadores e modelos matemáticos para o estudo dascinéticas de trânsito e de degradação ruminal em novilhos mantidos em pastagem de capim-braquiária (Brachiaria decumbens Stapf.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Vicosa, v.35, n.3, p.902-913, 2006.

LOPEZ-VILLALOBOS, N.; GARRICK, D.J.; BLAIR, H.T.; HOLMES, C.W. Possible effects of 25 years of selection and crossbreeding on the genetic merit and productivity of New Zealand dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Albany, v.83, p.154-163, 2000.

LOPEZ-VILLALOBOS,N.; GARRICK, D.J.; HOLMES, C.W.; BLAIR, H.T.; SPELMAN, R.J. Effects of selection and crossbreeding strategies on industry profit in the New Zealand dairy industry. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.83, p.164-172, 2000.

MACKLE, T. R.; BRYANT, A. M.; PARR, C. R. Nitrogen fertilizer effects on milk yield and composition, pasture intake, nitrogen and energy partitioning, and rumen fermentation parameters of dairy cows in early lactation. **New Zealand Journal of Agricultural Research,** Palmerston North , v.39, p.341–356, 1996.

MAIXNER, A.R.; QUADROS, F.L.F.; MONTARDO, D.P.; KOZLOSKI, G.V.; NORONHA, A. AURÉLIO, N.D.;ROSSI, G.E.; DANIEL, E.; BRUM, M.S.; BANDINELLI, D.G. Desempenho animal e produtividade de pastagens tropicais no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte,v.61, n.4, p.927-934, 2009.

MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VIEIRA, R.A.M.; COELHO DA SILVA, J.F.; PEREIRA, J.C. Determinação da cinética ruminal das frações protéicas de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 1243-1251, 1997.

MARINI, J; VAN AMBURGH, M. Partition of Nitrogen Excretion in Urine and the Feces of Holstein Replacement Heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.88, p.1778-1784, 2005.

MARTINEZ, J.C. **Avaliação de co-produtos na alimentação de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais durante a estação chuvosa e alimentadas no cocho durante a estação seca do ano.** 2008. 351p.Tese de(Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo,Piracicaba, 2006.

MARTINEZ, J.C. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica peletizada no concentrado de vacas leiteiras mantidas em pastagens de capim elefante durante o outono – inverno.** 2004.121p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004

McALLISTER, T.A.; BAE, H.D.; JONES, G.A.; CHENG, K.J. Microbial attachment and feed digestion in the rúmen. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, p. 3004-3018,1994.

McCORMICK, M.E.; WARD, J.D.; REDFEARN, D.D.; FRENCH, D.D.; BLOUIN, D.C.; CHAPA,V.; FERNANDEZ, J.M. Supplemental dietary protein for grazing dairy cows: effect on pasture intake and lactation performance. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.84, p.896–907, 2001.

McDONALD, I. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agriculture Science**, Cambrige, v.96, p. 251-252, 1981.

MCGUIRE, R.L.; BRADLEY, N.W.; LITTLE, C.O. Effects of frequency of feeding on excretion of chromic oxide, crude protein, and gross energy, and on nutrient digestibility by steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 25, p.185-193, 1966.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV E.R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 88, p. 645–650, 1977.

MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.63, n.9, p.1437-1446, 1980.

MISRA, A.K.; THAKUR, S.S. Effect of dietary supplementation of sodium salt of isobutyric acid on ruminal fermentation and nutrient utilization in a wheat straw based low protein diet fed to crossbred cattle. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, East Melbourne, v. 14, p.479–484, 2001.

MULLER, L.D.; FALLES, S.L. Supplementation of cool-season grass pastures for dairy cattle. Page 335 In: J. H. CHERNEY AND D. J. R. CHERNEY, eds. **Grass for dairy cattle**. CAB International, Oxon, UK. 1998, p-335.

MULLIGAN, F.J., DILLON, P. CALLAN, J.J., RATH, M.;O'MARA, F.P. Supplementary Concentrates Type Affects Nitrogen Excretion of Grazing Dairy Cows. **Journal of Dairy Science,** Savoy, v.87, p.3451-3460, 2004.

National Research Council. **Nutrient Requirements of Beef Cattle.** 7th ed. Washington: National Academy of Science. 1996. 361p.

National Research Council. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408p.

NEWMAN, Y.C.; SOLLENBERGER, L.E.; KUNKLE, W.E.; BATES, D.B. Crude protein fractionation and degradation parameters of limpograss herbage. **Agronomy Journal**, Cambridge, v.94, p.1381-1386, 2002.

NOCEK, J.E.; KOHN, R.A In situ particle size reduction of alfafa and timothy hay as influence by form and particle size. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.71, n.4, p.932-945, 1988.

OLIVEIRA, D.E.; MEDEIROS, S.R.; TEDESCHI, L.O.; AROEIRA, L.J.M.; SILVA, S.C. Estimating forage intake of lactating dual-purpose cows using chromium oxide and n-alkanes as external markers. **Scientia Agricola,** Piracicaba, v.64, n.2, p.103-110, 2007.

OLMOS COLMENERO, J.J.; BRODERICK, G.A. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Albany, v.89, p. 1704-1712, 2006.

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,** Amsterdam, v.10, p.457-467, 1983.

ORELLANA-BOERO, P.; BALCELLS J.; MARTIN-ORUE, S.M.; LIANG J.B.; GUADA J.A. Excretion of purine derivatives in cows: Endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, Madison, v. 68, p.243–250, 2001.

ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**,Cambridge, v.92, n.1, p.499-503, 1979.

PACHECO JR., A.J.D. **Valor nutritivo e cinética ruminal de gramíneas tropicais manejadas intensivamente.** 2009. 190p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PEDROSO, A.M.; DANÉS, M.A.C. Estratégias para redução dos custos da suplementação com concentrados. in: santos, f. a. p.; moura, j. c.; faria, v. p.. (org.). **requisitos de qualidade na bovinocultura leiteira**. Piracicaba, SP: FEALQ, v. 1, p. 183-244, 2008.

PENATI, M.A.; CORSI, M.; DIAS, C.T.S. Efeito do número de amostras e da relação dimensão-formato da moldura sobre o coeficiente de variação na determinação da massa de forragem em pastagens de capim Tanzânia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30. 2001, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: SBZ, 2001. p.46.

PEREIRA, F.R.; SATURNINO, H.M.; SALIBA, E.O.S.; GONÇALVES, L.C.; REIS, R.B.; MIRANDA, P.A.B.; MOURÃO, R.C.; SILVETRE, D.T.; CALDEIRA, P.N.S. Teores de proteína para vacas lactantes em pastejo de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** Belo Horizonte, v.61, n.5, p.1139-1147, 2009.

PETERSEN, S.O.; SOMMER, S.G.; AAES, O.; SOEGAARD, K. Ammonia losses from urine and dung of grazing cattle: Effect of N intake. **Atmospheric Environment,** Paris, v.32, p.295–300, 1998.

PEYRAUD, J.L.; ASTIGARRAGA, L. Review of the effect of nitrogen fertilization on the chemical composition, intake, digestion and nutritive value of fresh herbage: Consequences on animal nutrition and N balance. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.72, p.235–259, 1998.

PEYRAUD, J.L.; ASTIGARRAGA, L.; FAVERDIN, P. Digestion of fresh perennial ryegrass fertilized at two levels of nitrogen by lactating dairy cows. **Animal Feed Science Technology,** Amsterdan, v.64, p.155–171,1997.

PEYRAUD, J.L.; CAMERON, E.A.; WADE, M.H.; LEMAIRE, G. The effect of daily herbage allowance, herbage mass and animal factors upon herbage intake by grazing dairy cows. **Annalles de Zootechnie**, Paris, v.45, p.201-217, 1996.

PIRES, A.J.V.; REIS, R.A.; CARVALHO, G.G.P.; SIQUEIRA, G.R.; BERNARDES, T.F.; RUGGIERI, A.C.; ALMEIDA, E.O.; ROTH, M.T.P. Degradabilidade ruminal da matéria seca, da fração fibrosa e da proteína bruta de forrageiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.41, n.4, p.643-648, 2006.

PISULEWSKI, P.M.; OKORIE, A.U.; BUTTERY, P.J.; HARESIGN, W.; LEWIS, D. Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen. **Journal of Science Food and Agriculture**,Amsterdam, v.32, p.759-764, 1981.

PORTO, P.P.; DERESZ, F.;SANTOS, G.T.; LOPES, F.C.F.; CECATO, U.;CÓSER, A.C. Produção e composição química do leite, consumo e digestibilidade de forragens tropicais manejadas em sistema de lotação intermitente. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v.38, n.8, p.1422-1431, 2009.

RAMALHO, T.R.A. **Suplementação protéica ou energética para bovinos recriados em pastagens tropicais**. 2006. 64 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

RAZZ, R.; CLAVERO, T. Efecto de la suplementación con concentrado sobre la composición química de la leche en vacas doble propósito pastoreando *Panicum maximum -Leucaena leucocephala.* **Revista Científica,** Luz, v.8, p.53-57, 2007.

REEVES, M., FULKERSON, W.J.; KELLAWAY, R.C Production responses of dairy cows grazing well-managed kikuyu pastures to energy and protein supplementation. **Australian Journal of Experimental Agriculture.** Melbourne, v.36, p.763-770, 1996.

RIBEIRO FILHO, H.M.N.; ZIMERMANN, F.C.; KOZLOSKI, G.V. Baixa dosagem de óxido de cromo para estimativa da produção fecal em bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria,v.38, n.9, p.2567-2573, 2008.

RIBEIRO FILHO,H.M.N.; ZIMERMANN,F.C.; KOZLOSKI, G.V. Baixa dosagem de óxido de cromo para estimativa da produção fecal em bovinos. **Ciência Rural,** Santa Maria, v.38, n.9, p.2567-2573, 2008.

ROGERS, J.R.; HARVEY, R.W.; POORE, M.H.; MUELLER, J. P.; BARKER, J.C. Application of nitrogen from swine lagoon effluent to bermudagrass pastures: seasonal changes in forage nitrogenous constituents and effects of energy and escape protein supplementation on beef cattle performance. **Journal of Animal Science,** Albany, v.74, p.1126-1133, 1996.

ROMERO, J.V. **Compostos nitrogenados e de carboidratos em pastos de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) cv. Cameron manejados com intervalos de desfolhação fixos e variáveis.** 2008. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba,2008.

RUSSELL, J.B.; SNIFFEN, C.J.; VAN SOEST, P.J. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science,** Lancaster,v. 66, p.763-771,1983.

SANH, M.V.; WIKTORSSON, H.; LY, L.V. Effect of feeding level on milk production, body weight change, feed conversion and postpartum oestrus of crossbred lactating cows in tropical conditions. **Livestock Production Science,** Amsterdam, v.77, p.331-338, 2002.

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

SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; GRECO, L.F.; CARARETO, R.; PENATI, M.A. Suplementação de vacas sob pastejo: considerações técnicas e econômicas visando maior rentabilidade. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 8. 2007. Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2007. p.249-300.

SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; VOLTOLINI, T.V.; NUSSIO, C.M.B. Utilização da suplementação com concentrado para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE E LEITE, 5., 2003, Goiânia. **Anais ...** Goiânia: CBNA, 2003. p. 289-346.

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

SARMENTO, D.O.L. **Comportamento ingestivo de bovinos em pastos de capim marandu submetidos a regimes de lotação contínua.** 2003. 89p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide:** statistics; version 9.1.3. Cary, Statistical Analysi Systems Institute, 965 p. 2003.

SATTER, L.D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbes in vitro. **Journal of Animal Science**, Albany,v. 35, p.273-285, 1972.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.32, p.199-208, 1974.

SCHAEFER, D.M.; DAVIS, C.L.; BRYANT, M.P. Ammonia saturation constants for predominant species of rumen bacteria. **Journal of Dairy Science,** Lancaster, v.63, p.1248-1255, 1980.

SILVA, C.V.; LANA, R.P.; CAMPOS, J.M.S.; QUEIROZ, A.C.; LEÃO, M.I.; Abreu, D.C. Consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes e desempenho de vacas leiteiras em pastejo com dietas com diversos níveis de concentrado e proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v.38, n.8, p.1372-1380, 2009.

SMITH, R.H. Nitrogen metabolism in the rumen and the composition and nutritive value of nitrogen compounds entering the duodenum. In: MCDONALD, I. W.; WARNER, A.C.E. **Digestion and metabolism of ruminants.** New England Publ. Unit, Armidale, New South Wales: Australia. ed. Univ, 1975. p. 399.

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

SOARES, J.P.G.; BERCHIELLI, T.T.; AROEIRA, L.J.M. Estimativa de consumo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), fornecido picado para vacas lactantes utilizando a técnica do óxido crômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.33, n.3, p.811-820, 2004.

SODER, K.J.; MULLER, L.D. Case study: Use of partial total mixed rations on pasture-based daity farms in Pennsylvania and New York. **Professional Animal Scientist,** New York, v.23, p.300-313, 2007.

SODER, K.J.; GREGORINI, P. Relationship between supplemental protein and ruminal fermentation of an herbage diet. **The Professional Animal Scientist**, New York, v.26, p.290-297, 2010.

STONE, J.B.;TRIMBERGER G.W.; HENDERSON C.R.;REID J.T.;TURK K.L.;LOOSLI J.K. Forage intake and efficiency of feed utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.43, p.1275-1281, 1960.

STANGASSINGER, M., CHEN, X.B.. LINDBERG, J.E; GIESECKE, D. Metabolism of purines in relation to microbial production.In: ENGELHARDT, W.V.;LEONHARD-MAREK, S..;BREVES, G ;GIESECKE, D. **Ruminant physiology:** Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction, ed., Stuttgart:Ferdinand Enke Verlag, 1995. p.387-406.

STOCKDALE, C.R.; CURRIE, R.; TRIGG, T.E. Effects of pasture and supplement quality on the responses of lactating dairy cows to high energy supplements. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.30, p. 43-50, 1990.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B.; PELL, A.N.; LANNA, D.P.D.; BOIN, C. Development and evaluation of a tropical feed library for the Cornell net carbohydrate and protein system model. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 1-18, 2002.

TILLEY, J.M.A.;TERRY, R.A. A two stages technique for the “in vitro” digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, Oxford, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

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

VAN AMBURGH, M.E.; RECKTENWALD, E.B.; ROSS, D.A.; HIGGS, R.J.; OVERTON, T.R.; CHASE, L.E. Nitrogen recycling and rumen degradable protein requirements: Quantitative updates to describe microbial requirements, sources, and applications in ration formulation. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 93, E-Supplement, n. 1, p.467-47, 2010.

VAN DER GRINTEN, P., P. BAAYEN, M.T.; VILLALOBOS, L.; DWINGER, R.H.; MANNETJE, L.T. Utilisation of kikuyu grass pastures and dairy production in a high altitude region of Costa Rica. **Tropical Grasslands**, Lancaster v.26, p-255-262, 1992.

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

VANVUUREN, A.M.; KROL-KRAMER, F.; VAN DER LEE, R.A.; CORBIJN, H. Protein digestion and intestinal amino acids in dairy cows fed fresh Lolium perenne with different nitrogen contents. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, p.2215–2225, 1992.

VEGA, A.; POPPI D.P. Extent of digestion and rumen condition as factors affecting passage of liquid and digesta particles in sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 128, p. 207–215, 1997.

VENDRAMINI, J.M.B.; SOLLENBERGER, L.E.; ADESOGAN, A.T.; DUBEUX JR, J.C.B.; INTERRANTE, S.M.; STEWART JR, R.L.; ARTHINGTON, J.D. Protein fractions of Tifton 85 and Rye-Ryegrass due to sward management practices. **Agronomy journal,** Cambridge, v.100, p.463-469, 2008.

VIEIRA, R.A.M., PEREIRA, J.C., MALAFAIA, P.A.M.; QUEIROZ, A.C. The influence of elephant-grass (*Pennisetum purpureum* Schum., Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science Technology,** Amsterdam, v. 67, p.151-161, 1997.

VILELA, D.; ALVIM, M.J; MATOS, L.L.;MATIOLLI, J.B. Utilização de gordura protegida durante o terço inicial da lactação de vacas leiteiras em pastagem de coast-cross. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1503-1509, out. 2002.

VISEK, W.J. Some aspects of ammonia toxicity in animal cells. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.51, p.286-287, 1968.

VOLTOLINI, T.V. **Adequação protéica em rações com pastagem ou cana-de-açúcar e efeito de diferentes intervalos entre desfolhas da pastagem de capim Elefante sobre o desempenho lactacional de vacas leiteiras**. 2006.168p.Tese de (Doutorado Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo,Piracicaba, 2006.

VOLTOLINI, T.; SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; IMAIZUMI, H.; CLARINDO, R.L.; PENATI, M.A. Milk production and composition of dairy cows grazing elephant grass under two grazing intervals. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p.121-127, 2010.

VOLTOLINI, T.V. **Adequação protéica em rações com pastagens ou com cana-de-açúcar e efeito de diferentes intervalos entre desfolhas da pastagem de capim Elefante sobre o desempenho lactacional de vacas leiteiras.** 2006. 168 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; PIERRE, R.S. A theoretically-base model for predicting total digestible nutrient values of a forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, p. 95-119, 1992.

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

WILSON, G.; MARTZ, F.A.; CAMPBELL, J.R.; BECKER, B.A. Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake of urea diets for ruminants. **Journal of Animal Science**, Albany ,v.41, p.1431-1443, 1975.

WILSON, G.; MARTZ, F.A.; CAMPBELL, J.R.; BECKER, B.A. Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake of urea diets for ruminants. **Journal of Animal Science,** Albany, v. 41, p.1431-1438, 1975.

WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In:SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO. 1997, Viçosa, **Anais...**Viçosa, 1997. p.174-208.

YAN, T.; FROST, J.P.; AGNEW, R.E.; BINNIE, R.C.; MAYNE, C.S. Relationships among manure nitrogen output and dietary and animal factors in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.89, p.3981–3991, 2006.

ZANTON, G.I.; HEINRICHS, A.J. Analysis of Nitrogen Utilization and Excretion in Growing Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science,** Savoy**,** v. 91, p.1519–1533, 2008.

ZINN, R.A.; OWENS, F.N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis**. Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 66, p. 157-166, 1986.