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

**Teor de proteína no concentrado de vacas no terço inicial da lactação,
mantidas em pasto de capim elefante**

Lucas Jado Chagas

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

**Piracicaba
2011**

Lucas Jado Chagas
Zootecnista

**Teor de proteína no concentrado de vacas no terço inicial da lactação, mantidas
em pasto de capim elefante**

Versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010

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
2011

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

Chagas, Lucas Jado

Teor de proteína no concentrado de vacas no terço inicial da lactação, mantidas em pasto de capim elefante / Lucas Jado Chagas. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010. - - Piracicaba, 2011.
79 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Capim elefante 2. Lactação animal 3. Nitrogênio - Metabolismo 4. Pastagens
5. Suplementos protéicos para animais 6. Vacas I. Título

CDD 636.214
C433t

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

A toda minha família, que me permitiu construir cada ato daquilo de bom que me constitui. Em especial à meus pais Divaldo Jado Chagas e Euripa da Luz Aparecida Chagas e avós Nagib e Geralda, cujo amor e carinho dispensados a mim me fazem imensuravelmente grato.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida maravilhosa que me permite desfrutar.

À minha família e amigos por me presentear com seus exemplos e companhia, especialmente aos meus tios Gerson e Nildete, minhas irmãs Angélica, Fernanda, meu irmão Thiago, meu amigo José Fernandes... o Zé e ao 'véio' Taketo.

À Faculdade de Engenharia “Julio de Mesquita Filho” UNESP de Ilha Solteira e em especial ao meu orientador Antonio Fernando Bergamaschine, aos quais devo minha formação básica na Zootecnia e os almoços de domingo, além é claro da possante brazuca.

Aos colegas de graduação por tornar a jornada de trabalho mais humana e à alguns em especial por me tornarem mais humano.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela 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, estimado Kueio, pela amizade, orientação e companhia diária durante a condução do experimento, sempre por perto pra sanar os contratempos.

Ao nosso querido companheiro guia, Alexandre Mendonça Pedroso (o *BOLO*), por dar suporte nas questões técnicas... sociais... emocionais... financeiras...

Ao inconfundível “*Gordo*” (Sr. Laureano Alves da Silva) e a sua esposa Dona Eva pelo auxílio operacional e pelos fortificantes cafés ao raiar do sol.

Aos amigos do Laboratório de Bromatologia, Carlos César Alves e Ana Paula Oeda Rodrigues, 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 causos interessantíssimos.

Aos colegas de pós graduação Marina Arruda Danés (Uruk), Luiz Roberto Dell’Agostinho Neto (Conçolo), João Ricardo Rebouças Dórea (Baiano), Arlindo Pacheco Junior (Juninho) e Mariana Soares Peres (Mari), Fernanda Lopes Macedo (Lopinha), Rodrigo Marques da Silva (Rods), Cristiane Sitta (Cris), Amanda Prudêncio Lemes (Manduris) e tantos outros 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, a saudável tristeza do que passou, mas que faz a vida ter sentido e a gente sentir no final... que valeu a pena.

Aos estagiários Alfinet, Pamela, Monica e todo grupo NutriBov pela oportunidade de desenvolver um trabalho em equipe, por trabalharem com seriedade, responsabilidade e comprometimento.

Aos amigos e colegas da Central do Brasil *produções e eventos e também república* (Acreano, Gauxo, Baiano, Piaui, Tocantins... SP, Paraná e Rondônia) pela excelente convivência, histórias de vida, papo furado, mesa de bar e carne assada, com um companheirismo e amizade memoráveis.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, permitindo me dedicar ao mestrado no programa de Ciência animal e Pastagem.

MUITO OBRIGADO

"Tudo é uma questão de manter
a mente quieta, a espinha ereta
e o coração tranquilo"

Walter Franco

SUMÁRIO

ABSTRACT	13
LISTA DE SIGLA	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Valor nutricional das plantas forrageiras tropicais	20
2.3 Limitações nutricionais em sistemas de produção de leite em pastagens tropicais	22
2.4 Marcadores e Indicadores.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Avaliação do desempenho animal	29
3.1.1 Período experimental, animais e concentrados.....	29
3.1.2 Manejo da Pastagem	30
3.1.3 Medições no pasto e coleta de amostras de forragem e do concentrado	31
3.1.4 Comportamento animal e frequência respiratória.....	33
3.1.5 Controle leiteiro e amostragens do leite	34
3.1.6 Pesagem dos animais e escore de condição corporal (ECC)	35
3.1.7 Fornecimento do concentrado e coleta de sangue.....	35
3.2 Parâmetros ruminais - produção de ácidos graxos voláteis, pH ruminal e amônia ruminal	36
3.3 Coleta de urina	37
3.4 Consumo de matéria seca (CMS).....	38
3.4.1 Preparo do indicador de produção fecal e sua administração	38
3.5 Análises laboratoriais	40
3.6 Análises estatísticas.....	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1 Características da pastagem	43
4.2 Características nutricionais dos alimentos.....	46
4.3 Consumo e Desempenho.....	50
4.3.1 Consumo de matéria seca (CMS).....	50
4.3.2 Produção e composição do leite	51
4.3.3 Peso vivo e escore de condição corporal	57
4.4 Comportamento animal e frequência respiratória.....	58
4.5 Parâmetros ruminais	62
4.6 Excreção e eficiência no uso do nitrogênio	64
5 CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS	71

RESUMO

Teor de proteína no concentrado de vacas no terço inicial da lactação, mantidas em pasto de capim elefante

O objetivo com este estudo foi avaliar o efeito de teores crescentes de proteína no concentrado de vacas leiteiras no terço inicial da lactação mantidas em pastagens de capim elefante (*Pennisetum purpureum*), manejadas com altas taxas de lotação durante o período chuvoso, sobre as seguintes variáveis: 1) produção e composição de leite; 2) peso vivo e condição corporal dos animais; 3) consumo de matéria seca; 4) parâmetros sanguíneos; 5) parâmetros ruminais; 6) composição bromatológica e morfológica da pastagem; e 7) comportamento animal. Buscou-se também a caracterização da PB do capim e a adequação proteica da dieta, visando otimizar a eficiência de utilização do nitrogênio. Foram utilizadas 30 vacas (HPB x Jersey) distribuídas em 10 grupos homogêneos, cada um compondo um quadrado latino 3x3, de acordo com a composição racial, dias em lactação e produção de leite e receberam suplemento concentrado com três níveis de PB durante períodos de 21 dias. Os concentrados continham milho moído fino, minerais, vitaminas e os três níveis de proteína (T1: 7,8; T2: 15,4; T3: 20,5% PB) 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 15,5%. As produções de leite e de leite corrigido para 3,5% de gordura, os teores e produções de gordura, proteína e caseína no leite, o consumo de matéria seca (CMS) não foram influenciados ($P>0,05$) pelos teores de PB dos concentrados. A concentração de nitrogênio ureico no leite aumentou linearmente ($P<0,01$) com o aumento dos teores de PB dos concentrados. A excreção de N pela urina foi maior ($P<0,01$) para os animais recebendo os concentrados contendo farelo de soja (T2 e T3) em relação àqueles consumindo o concentrado contendo apenas milho (T1). Além disso, a concentração de N amoniacal no rúmen foi menor ($P<0,05$) para estes últimos animais, que apresentaram, ainda, perda de peso durante o período experimental. A excreção total de N no ambiente acompanhou o comportamento do teor de PB dos concentrados. O fornecimento de farelo de soja no concentrado de vacas em terço inicial de lactação, mantidas em pastagens tropicais manejadas intensivamente, não resulta em benefício produtivo, mas favorece o acréscimo do peso corporal dos animais.

Palavras-chave: Pastagens tropicais; Suplementação proteica; Metabolismo de nitrogênio; Fracionamento proteico

ABSTRACT

Protein levels in the concentrate for early lactation cows maintained in an elephant grass pasture

The aim of this study was to evaluate the effects of increasing levels of protein in the concentrate for early lactation cows maintained in an elephant grass pasture (*Pennisetum purpureum*), which was managed under high stocking rate during the raining season. The following variables were evaluated: 1) milk yield and composition; 2) body weight and condition score; 3) dry matter intake; 4) blood parameters; 5) rumen parameters; 6) chemical and morphological composition of the pasture; and 7) animal behavior. Protein fractionation of the pasture, and diet protein balancing were also studied as a way to improve efficiency of nitrogen use. Thirty Holstein × Jersey cows, distributed in 10 homogenous groups according to breed composition, days on lactation, and milk production, were used. In each group a 3×3 Latin square experiment was designed. Treatments consisted of 3 levels of crude protein in the concentrate supplement (T1: 7.8; T2: 15.4; T3: 20.5% CP). Concentrates were composed of finely ground corn, and mineral and vitamin mixture. Protein levels were obtained by adding soybean meal. Elephant grass pasture was fertilized with 50 kg N ha⁻¹ after every grazing period, and presented 15.5% CP in average. Milk yield, fat corrected milk (3.5% fat), milk fat (g day⁻¹ and %), milk protein (g day⁻¹ and %), milk casein (g day⁻¹ and %), and dry matter intake were not affected ($P>0.05$) by the supplement protein level. Concentration of ureic nitrogen in the milk increased linearly ($P<0.01$) as protein supplementation was increased. Nitrogen excretion in the urine was higher ($P<0.01$) for cows receiving the concentrates with soybean meal (T2 and T3), in comparison with those fed supplements containing just corn (T1). Moreover, these later had lower N-NH₃ concentration in the rumen ($P<0.05$), and a negative body weight gain. Total N excretion to the environment follows the increasing in the protein level supplementation. Feeding soybean meal to early lactation cows, maintained in an intensively managed tropical pasture, does not result in productive benefits; however, it promotes an increasing in body weight of the animals.

Keywords: Tropical pastures; Protein supplementation; Nitrogen metabolism; Protein fractionation

LISTA DE SIGLA

AGV – Ácidos Graxos Voláteis
CMS – Consumo de Matéria Seca
CNCPS – Cornell Net Carbohydrate and Protein System
CNF – Carboidratos Não Fibrosos
DEL – Dias em Lactação
ECC – Escore de Condição Corporal
EUN – Eficiência no Uso do Nitrogênio
FDA – Fibra Solúvel em Detergente Ácido
FDN – Fibra Solúvel em Detergente Neutro
FDAi – Fibra Solúvel em Detergente Ácido Indigestível
FDNi – Fibra Solúvel em Detergente Neutro Indigestível
G_n – Grupo de animais
IL – Interceptação Luminosa
Kp – Taxa de Passagem
LCG – Produção de Leite Corrigida para 3,5% de gordura
MS – Matéria Seca
N – Nitrogênio
N-NH₃ – Nitrogênio amoniacal
NDT – Nutrientes Digestíveis Totais
NIDA – Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido
NIDN – Nitrogênio Insolúvel em Detergente Neutro
NNP – Nitrogênio Não Proteico
NRC – National Research Council
NUL – Nitrogênio Ureico no Leite
NUP – Nitrogênio Ureico no Plasma
PFCo – Produção Fecal a Partir do Concentrado
PFT – Produção Fecal Total
PB – Proteína Bruta
PDR – Proteína Degradável no Rúmen

PNDR – Proteína Não Degradável no Rúmen

PV – Peso Vivo

T_n – Tratamento

UA – Unidade Animal

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção de leite está distribuída por todo o país e a heterogeneidade do processo produtivo é marcante. Os produtores especializados investem em tecnologia, usufruem das economias de escala e diferenciam seu produto, recebendo mais pelo volume produzido e pela qualidade alcançada. Os produtores com este perfil se concentram em bacias leiteiras tradicionais, como nos estados de Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul (CARVALHO et al., 2007). Em meio aos especializados, inúmeros pequenos produtores estão distribuídos por todo o território nacional e vivem da renda gerada na atividade, que ainda é vital para a agricultura familiar (CARVALHO; OLIVEIRA, 2006).

Na década de 1990, eventos políticos e econômicos importantes ocorreram no setor lácteo brasileiro. Os mercados conviveram com surtos de importações de produtos devido ao câmbio supervalorizado, tabelamento de preços para combate à inflação e mudanças nas políticas de apoio à produção (OLIVEIRA; CARVALHO, 2006). A abertura de mercados externos, evidenciada na década de 1990 exigiu estratégias competitivas do produtor, tanto na redução de custos, quanto na diferenciação da qualidade na produção. As economias em escala, obtidas com a especialização do sistema de produção, a busca por aumentos na produtividade, além da Instrução Normativa 51 (IN 51) e dos sistemas de pagamento por qualidade constituem-se em ferramentas importantes na adequação da cadeia de produção leiteira às novas características na dinâmica do mercado de laticínios.

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 proteica 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.

Além da contaminação ambiental, a excreção de nitrogênio excedente também demanda energia do metabolismo animal, energia esta que poderia ser utilizada para sustentar níveis mais elevados de produção.

Dietas altamente proteicas devem estar em conformidade com animais de elevado mérito genético, com alta produção de leite. A composição do leite é outro aspecto a ser considerado. A adequação dos nutrientes em relação às exigências nutricionais dos animais e seu patamar produtivo devem ser avaliados para que não haja déficit, nem excesso de nutrientes. A mensuração do nitrogênio ureico circulante no plasma foi anunciada como instrumento para monitorar o excedente de nitrogênio na dieta. No entanto, este método exige a realização da coleta de sangue, que submete os animais a estresse adicional no sistema. O nitrogênio ureico no leite, por exemplo, é uma ferramenta que começa a se difundir, mediante a realização desta análise nos laboratórios de análises de leite, como os da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite.

O aumento no consumo de commodities com o crescimento da população e a expansão da produção animal em área e produtividade aponta para elevação no custo de insumos para alimentação do rebanho. O impacto desse aumento de preços sobre a pecuária leiteira é variado em função das especificidades de cada propriedade, as mais competitivas apresentam, em geral, menores gasto com concentrado e alta produtividade. Outra característica é que com concentrados contendo 16% ou mais de PB na MS, há predição de excesso de proteína na ração para vacas mantidas em pastagens adubadas e sob pastejo rotativo. 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. Assim, a hipótese deste trabalho é que vacas no terço inicial de lactação, com produções entre 25 a 30 kg de leite/dia, quando mantidas em pastagens tropicais com teores altos de proteína bruta (16 a 18% na MS) respondem à suplementação com concentrados contendo até 15% de PB na MS. Teores mais elevados resultariam em excesso de proteína na ração.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O potencial dos sistemas intensivos de produção de leite em pastagens tropicais tem sido evidenciado por resultados de trabalhos que destacam a capacidade para elevadas produções de leite por área, investimentos moderados em instalações e custos de produção competitivos como fatores determinantes para a opção por esse sistema (CORSI, 1986; CAMARGO, 1996, 2005; SANTOS et al., 2005). No entanto, trata-se ainda de uma abordagem não plenamente contemplada, onde estudos que avaliam os efeitos das condições da pastagem (características químicas, estrutura física e manejo) no metabolismo e desempenho animal apresentam-se relativamente escassos se comparados à trabalhos que avaliam exclusivamente as características da planta ou do animal de maneira isolada.

Apesar das elevadas produções de matéria seca (MS) observadas nas gramíneas tropicais, falhas no manejo da pastagem podem resultar em perdas da ordem de 20 a 80% da forragem produzida (CORSI, 1994). Sendo assim, sistemas intensivos de produção requerem a aplicação de técnicas adequadas de manejo das pastagens visando otimizar, tanto a produção e a colheita quanto a eficiência de utilização dessa forragem pelo animal (DERESZ et al., 1992; Da SILVA; PEDREIRA, 1996; CORSI; MARTHA Jr., 1997).

Os sistemas de produção de leite que utilizam as pastagens são as alternativas mais viáveis, em termos econômicos, onde produzir leite a baixo custo é uma exigência por razões sociais, e o potencial do rebanho não é alto (SIMÃO NETO et al., 1993). No entanto é fundamental utilizar de forma eficiente as técnicas de pastejo visando a melhor utilização da matéria seca produzida durante o período de chuvas. De forma geral o índice de aproveitamento das pastagens é variado e consideravelmente baixo, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1- Valor de utilização da matéria seca estimado para pastagens tropicais.

Autor	%
Cowan R.T. & Lowe K.F (1998)	30,0 - 50,0
Fulkerson et. al (2006)	50,1 - 58,7
Summelmann et. al (2008)	30,0 - 50,0
Van der Griten (1999)	46,0

Por outro lado, o fornecimento exclusivo de pastagens tropicais não atende as exigências nutricionais de vacas leiteiras com produção diária superior a 10 – 14 kg de leite (SANTOS et al., 2003), conforme apresentado na Tabela 2. O comprometimento das reservas corporais para garantir a produção de leite nessas condições tem sido uma preocupação constante dos nutricionistas. Desta forma, a suplementação com concentrado para suprir as deficiências nutricionais de ordem qualitativa e quantitativa aos animais, pode ser uma prática importante para aumentar a produtividade dos sistemas de produção de leite em pastagens tropicais manejadas intensivamente (DAVISON et al., 1990; SANTOS et al., 2005), assegurando a longevidade do animal.

Tabela 2 - Produção diária de leite de vacas mantidas em pastagens tropicais

<u>Espécie forrageira</u>	<u>Produtividade (L/vaca/dia)</u>	<u>Autor</u>
<i>Brachiaria decumbens</i> , <i>B. mutica</i>	8,0	Alvim et al. (1992); Wendling (1997)
<i>Panicum maximum</i>	10,0	Davison et al. (1985); Lima (2002)
<i>A. gayanus</i> , <i>B. brizantha</i> , <i>C. plectostachyos</i> , <i>P. maximum</i>	10,4	Juarez Lagunes (1999)
<i>Pennisetum purpureum</i>	10,5	Aroeira (1996)
<i>Pennisetum purpureum</i>	11,0	Deresz (1994)

Fonte: adaptado de Martinez (2004)

2.1 Valor nutricional das plantas forrageiras tropicais

O conceito de que pastagens tropicais, apesar do seu grande potencial de produção, apresentam baixo valor nutricional ainda existe, mas o conhecimento tecnológico atual tem permitido o aprimoramento das práticas de manejo de pastagens, possibilitando a produção de forragem de boa qualidade (SANTOS et al., 2007). Trabalhos recentes têm demonstrado que pastagens tropicais, quando bem manejadas, produzem forragem com bons teores proteicos e energéticos. Dados de composição bromatológica de amostras de pastejo simulado de forrageiras tropicais bem manejadas, obtidos de trabalhos de pesquisa e de sistemas comerciais de produção de leite são mostrados nas Tabelas 3 e 4 respectivamente.

Tabela 3 - Composição bromatológica (%MS) de amostras de pastejo simulado de forragens tropicais relatadas em trabalhos de pesquisa

Forragem	PB, %	FDN, %	FDA, %	Referência
<i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu	12,6	57,4	34,5	Correia, 2006
<i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu	13,6	56,2	31,5	Correia, 2006
<i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu	15,3	65,0	32,0	Costa, 2007
<i>Panicum maximum</i> cv. Colônia	16,3	66,0	32,4	Ramalho, 2006
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	14,6	65,1	35,9	Voltolini, 2006
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	20,6	63,2	33,3	Carareto, 2007
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	13,7	62,9	33,3	Martinez, 2004
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	20,6	64,7	32,5	Fontanelli, 2005
Quicuí	21,4	66,4	26,0	Fontanelli, 2005
Tifton – 68	22,1	65,5	25,4	Fontanelli, 2005

Tabela 4 - Concentrações PB e de NDT em amostras de pastejo simulado de forrageiras tropicais em pastagens comerciais.

Local	Gramínea	Idade (dias)	PB (%MS)	NDT (%MS)
MG	Tifton-85	21	18,9	63,9
MG	Tangola	25	17,9	62,4
MG	Setária	22	17,5	60,3
SP	Tanzânia	30	18,2	61,2
SP	Elefante	35	13,7	60,2
RS	Tifton-68	21	14,3	64,9

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

É importante ressaltar que a composição bromatológica como critério isolado não deve ser usada como parâmetro na determinação da qualidade da forrageira, uma vez observado que outros fatores como a idade da planta e estratégias de adubação influenciam qualitativamente nas características do material a ser disponibilizado aos animais. A adubação nitrogenada, realizada após cada ciclo de pastejo, influencia diretamente os teores de PB das plantas forrageiras. Johnson et al. (2001), observaram teores de PB (%MS) de 9,81%, 10,84%, 13,81%, 15,75% e 18,12% para gramínea tifton 85, cortada a 5 cm do solo a cada 28 dias, quando adubada com doses de 0kg, 39kg, 78kg, 118kg e 157kg de N.ha⁻¹ por corte, respectivamente.

Os valores apresentados nas Tabelas 3 e 4 são consequência da forma de amostragem (pastejo simulado), adubação nitrogenada e idade da planta, evidenciando que em sistemas nos quais altas doses de N são aplicadas visando elevadas lotações nos pastos, a planta terá elevado teor de PB, desde que colhida no ponto certo.

Plantas forrageiras tropicais que apresentam 56 a 65% de FDN, 13 a 22% de PB, 2% de extrato etéreo e 8% de cinzas, contêm apenas 3 a 21 % de carboidratos não fibrosos (CNF). Estes teores baixos de CNF certamente limitam o uso de boa parte da fração degradável da PB no rúmen (PDR) dessas forragens (NRC, 2001). Segundo Noller (1997), a ingestão de matéria seca tem efeito mais expressivo na produção animal que a composição química da forragem. Pardo (2001) afirma que alterações no comportamento ingestivo dos animais podem modificar as características da pastagem. Considerando que a disponibilidade ruminal de N e energia afetam diretamente a síntese de proteína microbiana no rúmen (CLARK et al., 1992), sendo a ingestão de energia o principal fator limitante para produção de leite em pastagens de gramíneas tropicais adubadas com nitrogênio, maior ênfase deve ser dada à suplementação energética (DAVISON, 1990; VERBIC, 2002). Esta realidade indica a possibilidade de redução de custo na suplementação concentrada de vacas em lactação, através da utilização de suplementos energéticos, muitas vezes dispensando ou minimizando a utilização de suplementos proteicos, de custo mais elevado (DELGADO; RANDEL, 1989). O produtor dá ênfase a teores proteicos elevados em concentrados comerciais, negligenciando a PB da forragem e o fornecimento adequado de energia, uma vez que se obtêm valores de PB superiores a 20% da MS em pastagens bem manejadas.

2.3 Limitações nutricionais em sistemas de produção de leite em pastagens tropicais

Segundo Muller e Falles (1998), um número limitado de estudos têm sido conduzidos para se determinar os nutrientes mais limitantes para a produção de leite de vacas mantidas em pastagens. Tanto para gramíneas temperadas (MULLER; FALLES, 1998) como para tropicais bem manejadas (DAVISON; ELLIOTT, 1993; DAVISON et al.,

1982; REEVES et al., 1996; SANTOS et al., 2005), a ingestão de energia metabolizável constituiu-se na maior limitação para vacas leiteiras mantidas em pastagens.

Na Tabela 5 são apresentados os balanços de PDR e as quantidades de milho moído para zerar esses balanços no rúmen de vacas consumindo 12 kg de MS de pasto tropical (63,3% de NDT) com teores crescentes de PB. A simulação foi feita utilizando o NRC (2001), e os dados de degradabilidade da proteína do pasto foram os do feno de tifton 85 da biblioteca do NRC (2001).

Tabela 5- Teores de proteína bruta (PB) em pastos tropicais, balanços de PDR e necessidade de milho moído para zerar esses balanços e produção de leite predita.

Variáveis	14% PB	16% PB	18% PB	20% PB
CMS de pasto, kg / dia	12	12	12	12
Balanço de PDR, g	+ 35	+ 202	+ 370	+ 537
Milho moído, kg	0,52	3,2	6,1	9,4
Produção de leite predita, kg	11,2	17,5	23,6	29,2

Fonte: NRC, 2001

De acordo com o NRC (2001) o consumo exclusivo de 12 kg de MS de pasto 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. De acordo com estes dados, vacas mantidas em pastos tropicais bem manejados, têm sua produção de leite limitada primeiramente por energia e não por proteína. Na simulação apresentada na Tabela 5, a suplementação com 6,1 kg de milho para as vacas mantidas em pastagens com 18% de PB, resultou em produção teórica de 23,6 kg de leite. No trabalho de Fontaneli (2005), com capim elefante, quicuí 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, 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.

O alimento concentrado tem papel importante na produção de leite, sobretudo para animais de alta produção. O preço de insumos como milho, farelo de soja, farelo de algodão e farelo de trigo, por exemplo, tem peso relevante na formação

dos custos de produção de leite e consequentemente na rentabilidade da atividade leiteira

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, 2006). É importante o balanceamento adequado da dieta em proteína, pois além do impacto no fator produtivo, os suplementos proteicos representam parcela considerável do custo das dietas para vacas em lactação. Comercialmente no Brasil, os concentrados fornecidos para vacas lactantes mantidas em pastagens tropicais variam de 16 a 24% de PB na matéria natural. Estes valores de proteína bruta justificam-se apenas em condições de pastagens mal manejadas, com teores baixos de PB ou no caso de vacas no início de lactação, com produções de leite superiores a 30 kg/dia. Conforme a simulação apresentada na Tabela 5, dependendo do teor de PB da pastagem, produções de até 29,2 kg/dia, podem ser obtidas com suplementação exclusiva de fonte energética como o milho (NRC, 2001).

Van Der Grinten et al. (1992) avaliaram a suplementação proteica em quatro sistemas de produção baseados em pastagens tropicais com 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. A utilização de concentrado com teores excessivos de PB resulta em teores altos de N-ureico no plasma e no leite. Isto pode prejudicar o desempenho reprodutivo das vacas e aumentar as exigências em energia uma vez que são necessárias 13,3 kcal de energia digestível para excretar um grama de N (LIMA et al., 2004). Ainda, os concentrados proteicos são caros e a grande quantidade de N excretado pode gerar impacto ambiental negativo. Mulligan et al. (2004), utilizaram vacas de alta produção em pastagens e observaram que suplementos com baixa concentração proteica foram mais eficientes na utilização do N dietético, diminuindo sua excreção no ambiente, sem alterar a produção de leite. O monitoramento de valores de N-ureico no leite é uma das ferramentas que permitem avaliar a adequação proteica da dieta consumida pelas vacas. Os valores

recomendáveis variam em função do estágio de lactação e produção de leite (BRODERIK; CLAYTON, 1997).

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). Hongerholt e Muller (1998), não observaram resposta em vacas com produção ao redor de 35 kg de leite.dia⁻¹, mantidas em pastagens temperadas, quando fontes ricas em PNDR foram suplementadas em comparação com o farelo de soja convencional. 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.

Reeves et al. (1996) conduziram um estudo bastante interessante com o objetivo de determinar se vacas mantidas em pastagens tropicais bem manejadas seriam mais responsivas à suplementação com fontes ricas em energia ou em PNDR. Quatro doses de concentrado foram fornecidas: 0, 3, 6 e 9 kg/vaca.dia⁻¹. O concentrado continha grão de cevada e farelo de canola tratado com formaldeído (rico em PNDR). Dentro de cada dose de concentrado foram formulados 4 concentrados contendo teores crescentes de farelo de canola a partir do nível zero. Os resultados obtidos mostraram que a produção de leite (17 a 23 kg/vaca.dia⁻¹) foi influenciada pelo suprimento de energia metabolizável e não pelo aumento de PNDR na dieta. Estes dados indicam que em pastagens tropicais bem manejadas, mesmo para vacas recebendo até 9 kg de concentrado por dia, energia ainda é o fator mais limitante para a produção.

Dados recentes (MARTINEZ, 2008; 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 alta proporção de fração B na proteína dessas pastagens, com taxas de degradação de 5 a 6% apenas. No caso de vacas no terço inicial de lactação com produções entre 25 a 30 kg de leite/dia, a suplementação exclusiva com fontes energéticas como o milho resultará em déficit de proteína degradável no rúmen (NRC, 2001). Esta limitação na síntese microbiana pode resultar em déficit de proteína metabolizável para o animal.

2.4 Marcadores e Indicadores

A determinação do consumo de matéria seca constitui-se um ponto de fundamental importância no estabelecimento de uma dieta equilibrada. Quando se tem animais confinados esta é uma tarefa relativamente fácil, pois toda alimentação é fornecida ao animal estabulado, o que faz da mensuração apenas mais uma etapa antes do fornecimento. Já com animais criados em sistemas de pastejo, fica comprometida a obtenção da quantidade exata e a composição do volumoso ingerido. Assim, elaboração e utilização de metodologias com o objetivo de estimar a ingestão de matéria seca por animais mantidos em pastagem adquire considerável importância nos estudos de nutrição. Mertens (1992) propõe que o consumo voluntário é regulado por três mecanismos: o fisiológico, onde a regulação é dada pelo balanço nutricional, o físico, relacionado à capacidade de distensão do rúmen e ainda o psicogênico, que envolve o comportamento responsivo do animal a fatores inibidores ou estimuladores relacionados ao alimento ou ao ambiente.

A coleta total de fezes, associada a uma estimativa da digestibilidade da matéria seca da pastagem, tem sido usada para a determinação do consumo animal. A produção fecal pode ser medida diretamente pelo uso de arreio associado a uma bolsa de coleta, ou indiretamente através da relação entre a quantidade de um marcador ou indicador ministrado ao animal e a sua concentração nas fezes. É importante ter em mente que o uso de marcadores ou indicadores inertes é mais apropriado para estimativa da produção fecal que para o consumo de forragens (Burns et al. 1994). Um grande número de substâncias tem sido utilizado como marcadores/indicadores indigestíveis, mas o mais comumente utilizado tem sido o óxido crômico III (Cr_2O_3). Mais recentemente, o uso de alcanos como indicadores da produção fecal (McMENIMAN, 1997). De acordo com Martinez (2008) a taxa de passagem (kp) é um dos mais importantes fatores influenciando o desaparecimento da dieta do rúmen e o consumo. A mensuração da kp é dependente da cinética de desaparecimento de um marcador a partir do rúmen ou trato total podendo ser a substância interna ou externa, recuperada nas fezes (ORSKOV, 1981). Estes processos de digestão e passagem podem ser descritos por modelos matemáticos (FOX, 2004), dessa forma, através de associações destes com os constituintes da parede celular vegetal, poderão constituir ferramenta na

elaboração de práticas de consumo de forrageiras. Segundo Dos Santos (2006) indicadores FDNi, FDAi e lignina incubados por 144 horas apresentaram resultados semelhantes aos obtidos por coleta total de fezes em experimento realizado por Berchielli et al. (2000). Já Ítavo et al. (2000), avaliando a digestibilidade de dois fenos de gramíneas do gênero *Cynodon*, por meio de estimativas obtidas por indicadores internos FDNi e FDAi, não observaram diferença significativa entre as estimativas dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes para o feno de capim coast-cross. O processo de purificação da lignina do *Eucalyptus grandis* (LIPE[®]), um polímero hidroxifenilpropano modificado, consiste na extração com solventes orgânicos da madeira, com posterior purificação e redução do tamanho das partículas. O material obtido desta forma pode ser utilizado em experimentos de digestibilidade com animais herbívoros ruminantes e não ruminantes, e animais não herbívoros; na estimativa de consumo e digestibilidade para animais a pasto ou confinados. A técnica de análise da digesta é a espectroscopia no infravermelho, que é uma técnica rápida, não destrutível e sensível (UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG, 2003).

Os alcanos são outra alternativa de indicador externo que constituem-se de hidrocarbonetos alifáticos saturados das ceras da cutícula das plantas. Inicialmente o uso potencial dos n-alcanos como indicadores para determinação do consumo e digestibilidade de forragens foi proposto por Mayes et al. (1986). O método mais indicado na determinação da digestibilidade aparente tem sido o da coleta total de fezes, mas em razão das dificuldades inerentes à sua utilização, foram idealizados os métodos indiretos ou dos indicadores, porém, podem apresentar falhas, fornecendo resultados diferentes da coleta total, que é a base de referência para validação dos outros métodos. Atualmente, o óxido crômico é um dos indicadores mais utilizados nos ensaios de digestibilidade. Na busca de um indicador ideal, o LIPE[®] (Lignina Purificada e Enriquecida), produto desenvolvido por pesquisadores do Departamento de Zootecnia EV/UFMG e Departamento de Química ICEX/UFMG, vem se apresentando como uma nova alternativa, pois se mostrou eficiente como indicador externo de digestibilidade em recentes pesquisas realizadas. De acordo com o referido autor há resultados experimentais com boa correlação com o método do óxido de cromo na determinação da digestibilidade em ovinos (SALIBA et al., 2005), frangos (VASCONCELOS, 2004) e coelhos (PEREIRA et al., 2005a).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas instalações do Departamento de Zootecnia (Figura 1) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, em Piracicaba, SP, entre os meses de novembro/2009 e julho/2010.

Figura 1 - Vista aérea do campo experimental, com marcação de piquetes

3.1 Avaliação do desempenho animal

3.1.1 Período experimental, animais e concentrados

O Experimento foi conduzido durante os meses de novembro de 2009 a julho de 2010. Foram utilizadas 30 vacas mestiças Holandês x Jersey, provenientes do rebanho leiteiro da ESALQ/USP, no terço inicial de lactação, produzindo em média $25 \pm 2,7$ kg.dia⁻¹. As vacas foram agrupadas em blocos homogêneos, de acordo com produção de leite, dias em lactação e paridade de lactação (primíparas/múltiparas), e distribuídas nos três tratamentos experimentais, em 10 quadrados latinos 3x3. O período experimental total teve duração de 60 dias, divididos em três subperíodos de 20 dias (14 dias de adaptação + 6 dias de coletas) para cada grupo de quadrados. Foram formados 4 grupos (G) de quadrados, em decorrência da não possibilidade de obter os 10 blocos concomitantemente. Desta forma, o G1 teve início em 19 de outubro de 2009;

G2 em 20 de dezembro de 2009; G3 em 4 de março de 2010; e G4 em 23 de abril de 2010. Foram avaliados três tratamentos: T1 – concentrado com 7,9 % de PB na MS; T2 – concentrado com 15,4 % de PB na MS e T3 – concentrado com 20,5 % de PB na MS. As composições dos concentrados experimentais encontram-se na tabela 6.

Tabela 6 - Composição dos concentrados experimentais

Ingredientes	% MS		
	T1	T2	T3
Milho moído fino	92,94	79,98	67,02
Farelo de soja	-	12,96	25,92
Núcleo mineral	5,56	5,56	5,56
Bicarbonato de sódio	1,50	1,50	1,50
Proteína Bruta esperada	8,7	13,4	18,1
Proteína Bruta obtida	7,9	15,4	20,5

3.1.2 Manejo da Pastagem

A área experimental consistiu de 33 piquetes de 0,2 ha formados com capim elefante (*Pennisetum purpureum*, cv Cameron e Napier). Os animais tiveram acesso ao piquete quando o dossel forrageiro atingia 95% de IL (Da SILVA; NASCIMENTO Jr., 2006), o que equivale a 105 cm de altura para o capim *Cameron* e 85 cm para o capim *Napier*. O período médio de ocupação, previsto para cada piquete foi de 1 dias. Todos os animais pastejaram a mesma área em grupo único, complementado por animais extras do rebanho para ajuste de carga animal. Novilhas em crescimento realizaram o pastejo de repasse para manter resíduo pós-pastejo entre 40 e 45 cm. Os pastos foram adubados com 50 kg de N/ha/por ciclo de pastejo, visando permitir uma taxa de lotação de 8 a 10 UA/ha durante o período experimental. A adubação com os outros nutrientes foi realizada em função da análise de solo (Tabela 7) conforme proposto por Corsi e Nússio (1994).

Tabela 7 - Análise de solo da área experimental de 0 a 20 centímetros, para macronutrientes realizada em maio de 2006

	pH	M.O	P	K	Ca	Mg	H+Al	Al	Soma	CTC	Sat.	Sat.	S	% K
ID	CaCl ₂		resina						bases		bases	Al	SO ₄	na CTC
		g dm ⁻³	mg dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³							V%	m%	mg dm ⁻³	
BLOCO B	5.7	61	44	8.4	66	33	34	0	107	141	76	0	20	6.0
BLOCO C*	5.1	51	20	6.6	56	31	47	0	94	141	67	0	37	4.7
BLOCO D	5.4	47	37	9.0	39	23	28	0	71	99	72	0	27	9.1
BLOCO E	4.4	44	26	2.5	40	18	58	2	61	119	51	3	22	2.1
BLOCO F	4.8	44	24	3.8	46	19	42	0	69	111	62	0	15	3.4
BLOCO J	6.2	38	32	4.4	60	35	22	0	99	121	82	0	25	3.6
MEDIA (2009)	5.3	46.63	27.375	6	51	26	36.6	0.3	82.6	119	69.3	0.4	26.875	4.6914
MEDIA (2008)	5.3	41.9	15.5	3.9	45	23	41	0.13	72	113	64	0.1	24.5	3.7
MEDIA (2007)	5.5	44.4	22.7	3.8	42	21	29	0.00	67	96	70	0.0	16.1	3.9
MEDIA (2006)	5.2	40.1	52.0	4.2	45.4	22.4	35.7	0.0	72.1	107.8	66.6	0.0	21.4	3.9
MEDIA (2005)	5.6	39.9	31.3	4.9	49.4	23.5	26.5	0.0	77.8	104.3	74.4	0.0	10.5	4.7

* Bloco C corresponde aos piquetes 14, 15 e 46 do bloco B, na figura 1

3.1.3 Medições no pasto e coleta de amostras de forragem e do concentrado

A altura do dossel foi medida em 20 pontos por piquete (Figura 2), traçando-se linhas imaginárias paralelas e equidistantes. As observações foram realizadas antes da entrada do lote experimental, após a saída do mesmo e após a saída do lote de repasse. As massas de forragem pré e pós-pastejo foram determinadas de modo destrutivo, cortando a planta a 5 cm do solo, em quatro pontos por piquete (Figura 3). A moldura utilizada na coleta apresentava dimensões de 1m x 1m, segundo proposto por Penati (2001). As amostras foram coletadas nos 6 dias finais de cada subperíodo, correspondente ao período de coletas, nos piquetes que estivessem em uso. As amostras colhidas foram compostas, pesadas *in natura* e uma sub-amostra de aproximadamente 700g retirada para a determinação do teor de MS da planta e determinação da composição morfológica do dossel (Figura 4), sendo separada em lâmina foliar, colmo e material senescido, tanto para o material coletado pré-pastejo quanto pós-pastejo.

Figura 2 - Esquema de pontos para medição de altura da forragem nos piquetes

Figura 3 - Esquema de corte para obtenção da massa e composição morfológica da forragem

A composição bromatológica da forragem foi determinada a partir de amostra do estrato pastejável (entre as alturas de entrada e saída dos animais). Durante os 6 dias de coleta de cada subperíodo experimental, foram coletados 40 pontos dentro de cada piquete, simulando a atividade de pastejo pelos animais. O material foi seco em estufa de ventilação forçada a 55° C, por 72 horas, composto por subperíodo e armazenado para posteriores análises. No primeiro dia do período experimental e a cada nova partida de milho e soja, foram coletadas as amostras. Os materiais foram moídos em moinho do tipo Willey em peneira de 5 mm e posteriormente à 1mm e armazenados para posteriores análises bromatológicas.

Figura 4 - Amostra de dossel forrageiro separada em folha, haste e material em senescência

Figura 5 - Medição da altura de entrada (esquerda), altura de saída (centro) e a amostragem de forragem para determinação de massa (direita)

3.1.4 Comportamento animal e frequência respiratória

Foram tomadas medidas de comportamento (tempo de pastejo, ócio e ruminação) nos animais experimentais. As observações foram feitas no 3º dia de coleta de cada subperíodo experimental durante 24 h, a cada 10 minutos (figura 6). As correlações das variáveis mensuradas foram testadas com as respostas metabólicas obtidas com cada tratamento.

Figura 6 - Animais marcados para avaliação de comportamento e frequência respiratória

A frequência respiratória foi observada durante o período de avaliação de comportamento, sendo registrados os dados entre as 9h e 15h e 30 min, com intervalos de 30 min. As observações foram com base no movimento de flanco e costelas, durante 1 min para cada animal. As medidas foram realizadas apenas com os animais em ócio, uma vez que movimentos de deslocamento e pastejo comprometem a avaliação pelo observador.

3.1.5 Controle leiteiro e amostragens do leite

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, às 6h e às 16h. A pesagem do leite foi realizada durante os 5 primeiros dias dos períodos de coleta por meio de medidores do tipo “Mark 5” (figura 7). Dos dias 2 a 4 de cada pesagem foram coletadas amostras de leite das duas ordenhas de cada vaca. As amostras foram compostas de maneira proporcional à produção em cada ordenha e analisadas para gordura, proteína, lactose, sólidos totais pelo processo de infravermelho através do analisador Bentley 2000 (Bentley Instruments®), nitrogênio ureico pelo analisador ChemSpec 150 (Bentley Instruments®) e 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. A coleta foi feita em tubo coletor de 100 mL contendo 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol, homogeneizada após 15 minutos e armazenado em geladeira a 15°C por 24h e enviadas para análises.

Figura 7 - Medição da produção de leite. Em detalhe à direita o medidores do tipo “Mark 5”

3.1.6 Pesagem dos animais e escore de condição corporal (ECC)

As vacas foram pesadas e sua condição corporal mensurada (WILDMAN et al., 1982), sempre pela mesma pessoa, no primeiro e no último dia de cada subperíodo experimental, após a ordenha da manhã. O método de Wildman et al. (1982) sugere que dentro do universo de animais a serem analisados sejam eleitos o mais obeso e o mais magro e a estes atribui-se o menor e o maior valor de escore, respectivamente, para um lote. No entanto, para a avaliação evolutiva do ECC dos animais em quadrado latino, tomou-se como base para avaliação, ao final do período, a condição do mesmo animal, quando do início do período. Assim cada animal tem seu ECC relacionado ao tratamento no referido período.

3.1.7 Fornecimento do concentrado e coleta de sangue

O concentrado foi fornecido individualmente (Figura 8) na relação de 1 kg de matéria natural para cada 3 litros de leite produzido por dia, divididos em dois fornecimentos diários, às 6h e 16h, respectivamente após a ordenha da manhã e antes da ordenha da tarde. No último dia de cada período de coleta foram coletadas amostras de sangue, 4 horas após o fornecimento matinal do concentrado, através de punção na veia coccígea com tubo a vácuo contendo anticoagulante (EDTA-K₃), centrifugadas a

4000 rpm para separação do plasma sanguíneo, que foi armazenado á -18 °C em tubos de eppendorf, para posterior análise de uréia plasmática. A análise consistiu na hidrólise da uréia com uréase, 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.

Figura 8 - Fornecimento individual do concentrado

Figura 9 - Coleta de sangue na veia caudal. Em detalhe a direita o local de punção

3.2 Parâmetros ruminais - produção de ácidos graxos voláteis, pH ruminal e amônia ruminal

Foram tomadas amostras do fluído ruminal (30 mL) no ultimo dia de coleta de cada período experimental dos grupos G3 e G4. As coletas foram realizadas 4 horas

após o fornecimento matinal do concentrado, através da técnica de ruminocentese (figura 10). O pH foi medido com peagâmetro imediatamente após a coleta. As amostras foram, então, congeladas a -20°C e posteriormente analisadas para concentração de N-amoniacal (N-NH_3) ruminal e ácidos graxos voláteis (AGV).

Figura 10 - Incisão ventral da agulha para coleta de líquido ruminal (ruminocentese)

3.3 Coleta de urina

Por meio de massagem vulvar, foram coletados 100 mL de urina de cada vacas, três horas após o fornecimento matinal do concentrado no dia 3 do período de coleta. Em alíquota de 48 mL de urina foram adicionados 2 mL de ácido clorídrico 6N, a fim de manter o pH abaixo de 3,0. Após homogeneização, as alíquotas foram armazenadas no congelador a -20°C , conforme metodologia utilizada por San Emeterio et al. (2000).

A excreção diária de nitrogênio via urina foi estimada de acordo com a equação proposta por Huhtanen et al. (2007) eq. (1):

$$\text{N urinário (g/d)} = 12,4 \cdot \text{NUL(g/d)} + 20,8 \cdot \% \text{PB} - 178, \quad (1)$$

Esta equação apresenta boa correlação do nitrogênio ureico no leite (NUL) e a porcentagem de proteína bruta (%PB) da dieta ($R^2 = 0,97$).

3.4 Consumo de matéria seca (CMS)

3.4.1 Preparo do indicador de produção fecal e sua administração

Foram comparados 2 indicadores externos para a estimativa da produção fecal, o LIPE[®] e o óxido de cromo III. Para o LIPE[®], foram ministrados 500 mg, acondicionados em cápsulas solúveis em meio aquoso. O indicador foi administrado via oral (Figura 11), com uso de aplicador de cápsulas, diariamente às 6 horas, por 7 dias, com início no 12º dia de cada subperíodo, conforme Saliba et al. (2005). As fezes foram coletadas diretamente no reto (Figura 12) duas vezes ao dia (6 e 18 horas) durante os 5 primeiros dias do período de coleta. O óxido de cromo foi utilizado na dose de 20 g do indicador, diariamente, do 3º ao 20º dia de cada período, diretamente no esôfago das vacas por meio de aplicador de cápsulas (Figura 11), duas vezes ao dia, em péletes de papel toalha contendo 10 g de óxido de cromo (Figura 13).

Figura 11 - Aplicação oral dos péletes de cromo e cápsulas de LIPE[®]

Imediatamente após a coleta, as amostras de fezes foram congeladas a -20°C para posterior secagem, moagem, composição e análise de concentração de LIPE[®] e cromo.

Figura 12 - Coleta de fezes diretamente do reto

Figura 13 - Pélete de óxido de cromo e cápsula de LIPE®

As amostras de fezes foram moídas a 1 mm e as 10 amostras coletadas de cada animal foram reunidas de forma equivalente, com base na matéria seca, para compor uma amostra por vaca a cada período. Para análise da concentração de cromo, as amostras foram 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). Para análise de concentração de LIPE[®],

uma alíquota das amostras compostas foi enviada para análise em laboratório comercial da empresa fornecedora do indicador.

A produção fecal total (PFT) diária foi obtida com base na seguinte relação (eq. 2):

$$\text{Excreção fecal (kg/dia)} = \frac{\text{Quantidade de indicador administrado (g)}}{\text{Concentração do indicador nas fezes (g/kg)}} \quad (\text{eq. 2})$$

Uma vez que os animais receberam os concentrados no cocho, o CMS de forragem foi calculado de forma indireta, isto é, subtraindo-se as produções fecais (PFCo) calculadas a partir da digestibilidade *in vitro* do concentrado (DIVMSCo) da excreção fecal total (PFT) obtida no modelo, através da seguinte equação (eq. 3):

$$\text{PFCo (g MS vaca.dia}^{-1}\text{)} = 1 - (\text{CMSCo (kg/dia)} * \text{DIVMSCo (\%)}) \quad (\text{eq. 3})$$

De posse desses dados, o CMS da forragem foi estimado pela diferença entre a produção fecal total e a referente ao concentrado ingerido, em função da indigestibilidade da matéria seca da forragem (eq. 4):

$$\text{CMS forragem (kg/dia)} = \frac{\text{PFT} - \text{PFCo}}{(1 - \text{Digestibilidade da forragem})} \quad (\text{eq. 4})$$

3.5 Análises laboratoriais

As amostras da forragem e dos concentrados passaram por uma pré-secagem a 55 °C durante 72 horas, foram moídas em moinho tipo Willey, em peneira de 5 mm e em seguida de 1 mm, para então procederem-se análises de MS, MO, PB, EE e Cinzas, segundo a Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990), FDN segundo Van Soest et al. (1991) e FDA e lignina (Van SOEST et al., 1973). Para o fracionamento da PB, foram realizadas as análises de NNP, N solúvel, NIDN, NIDA, todos em %NT segundo Sniffen et al. (1992).

As determinações da DIVMS da forragem e dos concentrados foram feitas segundo metodologia descrita por Tilley e Terry (1963). O NDT do pasto foi calculado a partir da equação proposta por Weiss (1992). As amostras de fezes foram secas em estufa a 55°C por 72 horas, moídas em moinho tipo Willey, em peneira de 5mm e 1 mm e analisadas para concentração de óxido de cromo, LIPE[®] e teor de proteína bruta.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 4.000 rpm por 15 minutos a 4°C para obtenção de plasma, acondicionadas em tubos de 2 mL do tipo "ependorff" e congeladas a -10° C para determinação dos níveis de uréia plasmática de acordo com Chaney e Marbach (1962), adaptando o método para leitura em ELISA Reader BIO RAD (absorbância de 550 nm).

3.6 Análises estatísticas

Obrigatoriamente, todos os conjuntos de dados foram testados antes da análise geral final, na intenção de assegurar que todas as premissas da análise de variância (aditividade do modelo, independência dos erros, normalidade dos dados e homocedasticidade) estavam sendo respeitadas. Posteriormente os resultados originais foram submetidos a análises de variância e regressão polinomial simples, utilizando como fonte de variação o tratamento, animal (dentro de quadrado), período e quadrado, pelo PROC GLM (SAS, 2003), considerando um nível de 5% de significância para todos os testes realizados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características da pastagem

As características estruturais médias do dossel forrageiro são apresentadas na tabela 7. 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 deve estar em torno de 90 cm (DA SILVA, estudo em andamento). 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.

Tabela 7 - Características estruturais médias do capim elefante no momento de entrada e saída dos animais no piquete, de novembro de 2009 a maio de 2010

%MS	Entrada EPM	Saída EPM
Folha	39,4 (3,774)	18,0 (1,577)
Haste	39,0 (2,678)	49,4 (2,250)
Senescente	21,6 (5,006)	32,6 (2,598)
folha:colmo	1,01	0,36
Altura, cm	102,8 (3,396)	64,3 (3,873)
Massa de forragem, kg MS.ha ⁻¹	10783 (902,0)	7983 (521,0)
Densidade volumétrica, kg MS.(ha.cm) ⁻¹	105	124

O intervalo médio entre pastejos foi de 30 dias. A taxa de lotação média, considerando apenas os animais experimentais, foi de 5,2 UA.ha⁻¹. As vacas do experimento removeram em média 38,5 cm do dossel, ou 37,5 % da altura de entrada. Essa medida é importante, uma vez que têm sido demonstrado que quando o rebaixamento do dossel ultrapassa 50% da altura de entrada dos animais no piquete, o consumo é significativamente prejudicado por limitações comportamentais (CARVALHO et al., 2009). Após a permanência média 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 49,8 cm no período experimental. O tempo médio de ocupação foi de $1,2 \pm 0,099$, e variou de 0,5 a 3 dias, em função de ajustes na taxa de lotação.

O animal em pastejo está sob o efeito de muitos fatores, que podem também afetar o consumo de forragem. Entre esses, sobressai à oportunidade deste selecionar a dieta, pois o pastejo seletivo permite compensar a baixa qualidade da forragem, possibilitando a ingestão das partes mais nutritivas das plantas. A prioridade dos animais em pastejo é consumir as folhas mais novas, com maior valor nutritivo, seguida das folhas mais velhas, das folhas de extratos inferiores e, só então, o caule (STOBBS, 1978).

Combellas e Hodgson (1979) descreveram que a facilidade com a qual o pasto é colhido pelo animal depende das características estruturais do relvado, expressas principalmente pelo rendimento forrageiro, pela altura, pela relação caule: folha e pela densidade da biomassa total e de folhas. Estas características influem no consumo do pasto, por afetarem o tamanho do bocado, o número de bocados por unidade de tempo e o tempo de pastejo.

A massa de forragem que desapareceu entre a entrada e saída dos animais foi de aproximadamente 2,8 toneladas de MS há^{-1} . Como os piquetes tinham área de 0,2 ha, a massa removida foi de 518 kg por piquete, ou 17,3 kg MS por vaca, uma vez que o lote experimental continha 30 vacas. 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).

No presente estudo, a proporção de folhas foi de 39,46 % da massa de forragem (MF), valor este menor que os relatados por Carareto (2007), Voltolini et al.

(2010) e Danés (2010) que trabalharam na mesma área utilizando as mesmas metas de altura de entrada. Esta alteração se deve, provavelmente, 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 1,01 no presente estudo também foi menor que a relatada por Carareto (2007), de 1,29 e 1,12 segundo Danés (2010). No entanto, é um valor que assegura condição do dossel forrageiro favorável ao consumo pelos 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.

As plantas forrageiras tropicais tornam-se fibrosas quando colhidas em idade fisiológica avançada, reduzindo a sua qualidade mais rapidamente do que a das temperadas. Mesmo em pastagens com grande disponibilidade de forragem, pode haver limitação do consumo, pela maior dificuldade do animal em apreender o alimento de melhor qualidade, resultando em queda na produção (STOBBS, 1973). No entanto, segundo Stobbs e Minson (1980), é possível manter, por meio de manejo adequado, a qualidade inicial da forragem, mantendo-se os pastos no estágio vegetativo e com uma disponibilidade que permita ao animal seleção de forragem de melhor qualidade.

4.2 Características nutricionais dos alimentos

A análise bromatológica do capim e dos concentrados está apresentada na tabela 8. 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 8 - Análise bromatológica do capim e dos concentrados experimentais

Parâmetro	T1 (7,88 %PB)	T2 (15,42 %PB)	T3 (20,53%PB)	Capim
MS (%)	89,61	89,82	89,66	16,42
PB (%MS)	7,90	15,40	20,50	15,50
FDN (%MS)	12,36	14,76	14,10	56,72
FDA (%MS)	2,74	4,54	3,59	30,84
Lig (%MS)	0,29	0,55	0,23	3,06
EE (%MS)	2,05	2,60	2,89	2,47
Cz (%MS)	4,91	4,40	4,60	10,21
NDT (%MS)	81,75	81,70	82,60	60,81
DIVMS (% MS)	92,6	92,8	93,6	75,9

Não houve diferença no valor energético dos concentrados com base no NDT (WEISS et al., 1992), resultados confirmados pela ausência de diferença nos valores de DIVMS. 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.

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 doses elevadas de fertilizantes (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 consequência 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 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 do 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 9 estão apresentados os resultados das análises de NNP, N solúvel, NIDN e NIDA, realizadas em amostra de pastejo simulado em dois períodos. A partir desses valores foram calculadas as frações proteicas (Tabela 10), como já descrito anteriormente (SNIFFEN et al., 1992).

Tabela 9 – Valores das análises químicas para nitrogênio (N) total, N não proteico (NNP), N solúvel, N insolúvel em detergente neutro (NIDN) e N insolúvel em detergente ácido (NIDA) para o fracionamento da PB do capim

Amostra	(% MS)	(% N total)			
	N total	NNP	N solúvel	NIDN	NIDA
Novembro, 2009	2,58	24,05	31,39	38,87	11,07
Mai, 2010	2,06	28,06	29,77	35,36	10,42

Tabela 10 – Frações da proteína de amostras de pastejo simulado de capim elefante com 95% IL

Amostra	(% PB)				
	A	B1	B2	B3	C
Novembro, 2009	24,05	7,33	29,74	27,80	11,07
Mai, 2010	28,06	1,70	34,87	24,94	10,42

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 sub-frações 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 proteico 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 relatados 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). Danés (2010), trabalhando na mesma área

observou valores semelhantes ao de Romero (2008). Lacerda et al. (2004), trabalharam com capim Cameron sob pastejo rotativo 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. É verificado na literatura, a variação nas proporções das frações protéicas, no entanto, pode haver efeito de confundimento com as intensidades de adubação (JOHNSON et al., 2001). De acordo com Danés (2010), 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 $P < 0,01$). A idade da planta (CABRAL et al., 2000), e a altura de corte (VENDRAMINI et al., 2008) também podem afetar a distribuição da proteína na planta.

Boa parte dos trabalhos disponíveis na literatura sobre fracionamento proteico 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 proteico da porção da planta colhida pelos animais, sem que haja confundimento com outras variáveis.

O prejuízo acarretado pelo alto teor da fração C é evidente, visto que maior quantidade de proteína encontra-se indisponível ao animal. No entanto, excesso de nitrogênio não proteico 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.

4.3 Consumo e Desempenho

4.3.1 Consumo de matéria seca (CMS)

Os dados de consumo de MS (CMS) estão apresentados nas tabelas 11. Segundo Cordova et al. (1978), somente as exigências de manutenção requerem consumo de matéria seca em torno de 1,6 % do peso vivo. Apesar de ser baixo, esse valor apresenta-se dentro da faixa de consumo de forrageiras tropicais (1,0 a 2,8 % do PV), normalmente encontrada para vacas em pastejo (CORDOVA et al., 1978; AROEIRA, 1997). Os valores observados no presente estudos encontram-se dentro do intervalo de normalidade relatado na literatura.

Tabela 11 - Consumos de MS de pasto (CMSf) e total (CMSt) por animais recebendo níveis crescentes de proteína bruta no concentrado, estimados com a utilização dos marcadores LIPE® e cromo

Parâmetro	T1 (7,88 %PB)	EPM	T2 (15,42 %PB)	EPM	T3 (20,53%PB)	EPM
CMSp ¹ LIPE®, kg.d ⁻¹	8,843	(0,160)	9,563	(0,211)	9,568	(0,167)
CMSp cromo, kg.d ⁻¹	10,942	(0,359)	10,253	(0,297)	9,641	(0,250)
CMSp LIPE®, %PV.d ⁻¹	1,874	(0,042)	2,086	(0,053)	2,059	(0,051)
CMSp cromo, %PV.d ⁻¹	2,268	(0,088)	2,190	(0,072)	1,973	(0,054)
CMSt ² LIPE®, kg.d ⁻¹	16,943	(0,162)	17,663	(0,211)	17,668	(0,167)
CMSt cromo, kg.d ⁻¹	19,004	(0,359)	18,353	(0,297)	17,741	(0,250)
CMSt LIPE®, %PV.d ⁻¹	3,587	(0,054)	3,848	(0,064)	3,790	(0,066)
CMSt cromo, %PV.d ⁻¹	3,965	(0,105)	3,932	(0,101)	3,643	(0,079)

¹ CMSp = consumo de matéria seca de pasto; ² CMSt = consumo de matéria seca total

Os consumos de MS total por vaca, estimado com o indicador LIPE® de 16,94, 17,66, e 17,67 kg de MS/dia foram muito próximos dos valores estimados pelo NRC (2001), de 16,7, 16,7 e 17,2 kg de MS dia⁻¹, respectivamente. Os valores calculados com o óxido de cromo divergiram mais dos valores estimados pelo NRC (2001), provavelmente devido à superestimação da produção fecal decorrente da recuperação incompleta do cromo nas fezes, uma vez que foi assumido 100% de recuperação fecal do cromo.

De acordo com o NRC (2001), os balanços de PDR foram negativos nas dietas com menores teor de PB (7,9 e 15,4). Isso, de acordo com o programa resultou

em limitação na síntese microbiana e por consequência, no fluxo de proteína metabolizável para o intestino da vaca.

4.3.2 Produção e composição do leite

Os dados de produção e composição do leite estão presentes na tabela 13.

Tabela 13 - Produção e composição do leite e nitrogênio ureico no plasma (NUP) em função do nível de do proteína bruta concentrado

Parâmetro	T1 (7,88 %PB)	EPM	T2 (15,42 %PB)	EPM	T3 (20,53%PB)	EPM
Leite, kg/d	23,2	(0,60)	23,8	(0,47)	24,3	(0,52)
LCG ¹ , kg/d	22,6	(0,56)	23,1	(0,46)	24,1	(0,59)
Kg Leite:kg PV	0,049	(0,001)	0,052	(0,001)	0,052	(0,001)
Dias lactante	96		97		97	
Gordura, g/d	774,8	(0,022)	790,9	(0,019)	838,8	(0,025)
Gordura, %	3,36	(0,078)	3,33	(0,068)	3,48	(0,080)
Lactose, %	4,57	(0,038)	4,53	(0,041)	4,55	(0,037)
Proteína, g/d	734,4	(0,016)	764,8	(0,016)	786,4	(0,016)
Proteína, %	3,18	(0,041)	3,22	(0,041)	3,27	(0,050)
Caseína,	2,45	(0,048)	2,49	(0,046)	2,54	(0,049)
NUL ² , mg dL ⁻¹	6,44 c	(0,460)	8,87 b	(0,467)	11,20 a	(0,374)
NUP, mg dL ⁻¹	18,78	(0,835)	22,9	(0,803)	21,89	(0,747)

¹ LCG: leite corrigido para 3,5% de gordura; ² NUL: nitrogênio ureico no leite;

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com P<0,05

Com base nos valores estimados com uso do LIPE[®], são apresentados na tabela 13 a proporção volumoso:concentrado e o teor de proteína bruta das dietas experimentais. Da mesma forma, variáveis estimadas e dependentes do consumo de matéria seca foram todas baseadas nos valores obtidos com o indicador LIPE[®].

As produções de leite e de leite corrigido para 3,5% de gordura não foram afetadas pelo acréscimo de proteína no concentrado (Tabela 13) No entanto acompanharam o comportamento na variação de peso vivo, sugerindo que o pasto com 15,5% de PB e o concentrado energético não foram suficientes para atender às

exigências de proteína metabolizável de vacas no terço inicial da lactação produzindo ao redor de 23 kg dia⁻¹. Essa resposta se deve ao elevado teor de proteína bruta do capim, situação cada vez mais frequente em sistemas intensivos de produção de leite em pastagens. De acordo com os dados da Tabela 14, a dieta controle continha 11,9 % PB. Vacas holandesas confinadas produzindo acima de 30 kg dia⁻¹, apresentaram respostas quadráticas ao incremento de PB na dieta, tendo como nível máximo 16,5% (BRODERICK, 2003; OLMOS COLMENERO; BRODERICK, 2006). Esta informação corrobora com os déficits de proteína metabolizável e PDR obtidos com uso do NRC (2001) para o tratamento sem inclusão de farelo de soja.

Tabela 14 - Relação volumoso:concentrado e os teores de PB das dietas a partir dos consumos de pasto estimados com uso do LIPE[®]

Parâmetro	T1	T2	T3
CMS pasto	8,84	9,56	9,57
CMS concentrado	8,06	8,08	8,07
volumoso:concentrado	52:48	54:46	54:46
% PB da dieta	11,87	15,50	17,79

Os horários das alimentações e das ordenhas (6h e 16h) 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.

Em levantamento realizado por Danés (2010), verificou-se que a produção média de vacas mantidas em pastagens tropicais, de acordo com dados compilados da literatura recente (2003-2010), 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 8,1 kg dia⁻¹, para vacas no terço inicial da lactação.

O teor de gordura no leite e a produção diária de gordura não foram afetados pelos tratamentos (tabela 13) e apresentaram média de 3,39 % e 801,5 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, corroborando com as predições realizadas com o uso dos programas NRC (2001).

Teores de gordura ao redor de 3,4% observados no presente estudo são considerados baixos para animais com algum grau de sangue Jersey mantidos em pastagens com teores de FDN de 56%. 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 4,0% (SANTOS apud DANÉS, 2010) e 4,5% (LOPEZVILLALOBOS et al., 2000a, 2000b). 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 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 (DANÉS, 2010), os ingredientes utilizados são coprodutos 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 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, 2008) 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 coprodutos 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 poli-insaturados, 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.

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 13). 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 NUL ($p < 0,01$), 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 proteico 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; STPIERRE, 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 Suíça (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 dias em lactação (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 (DANÉS, 2010).

O NUL das vacas consumindo concentrado energético (7,9% PB), de 6,44 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; DANÉS, 2010). Isso poderia ser indicativo de deficiência de proteína na dieta, ou ainda de PNDR de baixa digestibilidade intestinal, com elevadas frações B3 e C.

Os valores de NUL são positiva e significativamente relacionados com os valores de nitrogênio ureico 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. No entanto, os valores de NUP no presente experimento não acompanharam o comportamento dos valores de NUL (Tabela 13).

4.3.3 Peso vivo e escore de condição corporal

O peso vivo (PV) e o escore de condição corporal (ECC) não diferiram em função do aumento no teor de PB da dieta (tabela 15). No entanto, pode-se observar que houve variação numérica do PV e do ECC entre os tratamentos. A não inclusão de soja foi acompanhada de perda de 2,1 kg ao final do período (21 dias), contra ganhos de 5,9 kg e 9,7 kg para inclusão de 12,9 % e 25,9 % de farelo de soja no concentrado. A variação no ECC não apresentou comportamento semelhante, com -0,03, +0,01 e +0,01 para o concentrado contendo apenas milho e com os acréscimos de farelo de soja.

Tabela 15 - Peso vivo (PV) e escore de condição corporal (ECC) de acordo com o nível de proteína bruta do concentrado

Parâmetro	T1 (7,88 %PB)		T2 (15,42 %PB)		T3 (20,53%PB)	
		EPM		EPM		EPM
PV, kg	477	(8)	464	(8)	471	(9)
Variação PV	- 2,1	(3,32)	5,9	(3,46)	9,7	(2,68)
ECC	3,06	(0,055)	3,00	(0,063)	3,05	(0,074)
Variação ECC	-0,03	(0,030)	0,01	(0,032)	0,01	(0,027)

De acordo com o NRC (2001), os balanços de PDR foram negativos nas dietas com suplementação com concentrado contendo 7,9 e 15,4% PB. Isso, de acordo com o programa pode ter resultado em limitação na síntese microbiana e por consequência, no fluxo de proteína metabolizável para o intestino das vacas. A limitação de PDR foi maior nos animais consumindo concentrado com 7,9% PB e menor com a

inclusão mais baixa de farelo de soja. No tratamento com maior inclusão de farelo de soja o balanço de PDR foi positivo. Ainda de acordo com o NRC (2001), houve limitação de proteína metabolizável nos tratamentos com 7,9 e 15,4% PB e sobra com uso do concentrado com maior inclusão de farelo de soja (20,5% PB).

Assumindo um rebanho manejado corretamente, vacas que do parto até aproximadamente 90 dias de lactação, momento em que o ECC atinge seu menor valor, apresentam queda de 0,75 a 1,00 unidades de ECC são observadas com maiores produção de leite (OVERTON; WALDRON, 2004).

Isso permite especular que a ausência de diferença na produção de leite (Tabela 13), pode ter ocorrido em função da diferença (não estatística) nos ganhos de peso vivo dos animais. As vacas no suplementação exclusiva com milho e minerais (7,9% PB) produziram a mesma quantidade de leite das vacas nos demais tratamentos, porém perderam peso, enquanto as vacas ingerindo concentrado com 15,4% e 20,5 % PB ganharam peso. Essa diferença de comportamento poderia ser explicada pelo déficit acentuado de proteína metabolizável no T1 estimado pelo NRC (2001).

4.4 Comportamento animal e frequência respiratória

As variáveis comportamentais não apresentaram variação decorrente do aumento de proteína bruta do concentrado, com a inclusão de farelo de soja (figura 14). A tabela 16 apresenta o tempo médio em minutos dedicado a cada atividade comportamental avaliada.

A porcentagem de animais que se dedicava a cada atividade em cada intervalo de observação é apresentada na figura 15. De maneira geral, os maiores picos de pastejo ocorreram entre 0h e 1 h e 30 min, entre 7 h e 8 h e 40 min, e principalmente entre 18 h e 30 min às 20 h e 30 min. Vale frisar que as ordenhas terminavam por volta das 7 h e 18 h.

A ocorrência de picos de pastejo no período noturno demonstra a capacidade dos ruminantes de se adequarem a períodos de melhores condições térmicas para o pastejo. No entanto, existe um limite de adequação dos animais às limitações diurnas (CARVALHO, 1997), sendo que as condições físicas do dossel forrageiro tem grande influência na capacidade de colheita pelos animais, bem como a

disponibilidade de água e sombra nos centros de manejo (HODGSON, 1990; GORDON; ILLIUS, 1992; UNGAR, 1996).

Figura 14 - Percentual de contribuição das atividades comportamentais durante 24 horas

Figura 15 - Porcentagem de animais em cada atividade comportamental a cada intervalo de observação

Tabela 16 - Caracterização das atividades comportamentais durante 24 horas

Atividade	minutos		
	T1	T2	T3
Ócio	369	369	371
Pastejo	377	381	388
Ruminação	451	443	436
Concentrado	20	20	20
Água	13	15	15
Outros	211	213	210

As vacas pastejaram em média durante 382 minutos e ruminaram 443 minutos por dia. Na mesma área, com vacas produzindo ao redor de 18 kg de leite por dia, suplementadas com 7 kg de concentrado, Martinez (2008) relatou 402 minutos de pastejo e 464 minutos de ruminação ao dia. Esta diferença pode ter sido em função de no presente estudo, as vacas estarem consumindo 9 kg de concentrado, havendo um efeito de substituição, principalmente com o manejo adotado, sendo a entrada dos animais quando a altura média do piquete era de 103 cm.

A observação do comportamento animal na pastagem e nas instalações configura um fator importante, pois possibilita ao produtor avaliar através da frequência respiratória, com base no período em que a mesma permanece alterada, uma condição do nível de estresse destes animais e a partir de então, tomar as medidas necessárias para aliviar tal estresse (RODRIGUES et al., 2009).

Os valores de frequência respiratória não foram afetados pelos tratamentos e apresentaram uma flutuação característica de vacas lactantes em ambiente de pastagem (Figura 16). O objetivo com as observações de frequência respiratória foi verificar a ocorrência de eventos de estresse climático que pudessem comprometer as manifestações de comportamento animal. O período de observação, das 9:30 até as 15:30, compreendeu os horários em que a maioria dos animais se apresentava em ócio, propiciando uma leitura confiável.

De acordo com Kunningham (2004), em situações de ambientes quentes (estressantes), os animais acionam o seu mecanismo termo regulatório a fim de dissipar o calor de seu corpo e, com isto, manter a sua temperatura corpórea dentro dos valores ideais (38 a 39,3°C para bovinos leiteiros). Para tanto, se faz necessário que, dentre

outros mecanismos, a sudorese e a frequência respiratória sejam elevadas a partir do momento em que a temperatura ambiente supere valores de 26-28°C. Também tem sido verificada em situações de estresse térmico, uma mudança no comportamento animal, de modo que o mesmo aumenta o seu consumo de água, diminui a ingestão alimentar e a ruminação e de acordo com Rossarola (2007), procura por sombras nas horas mais quentes do dia.

Figura 16 - Valores absolutos de frequência respiratória

De acordo com a Figura 16, fica clara a mudança de comportamento das vacas a partir das 13:00, com intensa elevação na frequência respiratória, para patamares indicativos de elevado estresse calórico. Trabalhando na mesma área, Martinez (2008) relatou médias de 36 e 65 para frequência respiratória, respectivamente para observações feitas às 8 h e 15 h e 30 min.

A frequência respiratória normal em bovinos adultos varia entre 24 e 36 movimentos respiratórios por minuto (mov/min) (STÖBER, 1993), mas pode apresentar valores mais amplos, entre 12 e 36 mov/min (TERRA, 1993). Sob estresse térmico, a frequência respiratória começa a elevar-se antes da temperatura retal (BIANCA, 1965) e, geralmente, observa-se taquipnéia em bovinos em ambientes com temperatura elevada (STÖBER, 1993; MULLER et al., 1994; PIRES et al., 1998).

A frequência respiratória está sujeita a variações intrínsecas e extrínsecas. As intrínsecas caracterizam-se pelas respostas aos exercícios físicos, medo, excitação,

estado fisiológico e produção de leite (WOLFF; MONTY, 1974; STÖBER, 1993; CARVALHO et al., 1995; MARAI et al., 1999). Fatores extrínsecos são atribuídos ao ambiente, como condições climáticas, principalmente temperatura e umidade do ar, radiação solar, velocidade dos ventos, estação do ano, hora do dia, densidade e sombreamento (INGRAHAM et al., 1979; IGONO et al., 1985; OKANTAH et al., 1992; MULLER; BOTHA, 1993; MULLER et al., 1994a; PIRES et al., 1998b; MARAI et al., 1999).

De modo geral houve indicativo de que as condições de sombra na área experimental não estavam satisfatórias.

4.5 Parâmetros ruminais

As coletas de fluido ruminal foram realizadas 4 horas após o fornecimento matinal do concentrado. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos para a variável pH ruminal (tabela 17). Isto era esperado, uma vez que todos os animais receberam a mesma dose de concentrado e não tiveram restrição ao consumo de forragem. Os valores de pH de 5,84, 6,09 e 5,94, respectivamente para T1, T2 e T3 não diferiram e foram próximos das médias consideradas normais de 5,5 a 7,0 para otimização da taxa de digestão ruminal e da degradação da parede celular da fibra sugeridas por Furlan et al. (2006). A inclusão de bicarbonato de sódio pode ter contribuído para a estabilidade do pH.

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 teor médio de FDN da forragem no presente estudo foi de 56,7%. 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 (3,39%) observado neste estudo com vacas produzindo ao redor de 23,8 kg de leite dia⁻¹.

A concentração de N amoniacal de 4,63 mg dL⁻¹ no rúmen dos animais recebendo concentrado energético é inferior a 5 mg.dL⁻¹ recomendado por Satter e Slyter (1974) como mínimo para maximizar a síntese microbiana. No entanto é superior a 2 mg.dL⁻¹, concentração abaixo da qual, segundo os autores, ocorre limitação de N no

rúmen para os microrganismos. No entanto, Leng (1990), ao sumarizar vários dados de literatura, relatou que são necessários cerca de 10 mg.dL⁻¹ de N amoniacal para maximizar a digestão ruminal. 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.

Tabela 17 - Parâmetros ruminais, nitrogênio ureico no plasma, de animais recebendo níveis crescentes de proteína no concentrado e diferentes fontes de N dietético

Parâmetro	T1 (7,88 %PB)	EPM	T2 (15,42 %PB)	EPM	T3 (20,53%PB)	EPM
pH	5,84	(0,722)	6,09	(0,789)	5,94	(0,743)
N amoniacal, mg dL ⁻¹	4,63c	(0,092)	9,21b	(061)	21,00a	(0,135)
C2 ¹ , mmol.mL ⁻¹	66,125	(3,519)	59,402	(3,438)	63,684	(3,699)
C3 ² , mmol.mL ⁻¹	19,778	(0,631)	17,427	(0,931)	19,004	(0,915)
C4 ³ , mmol.mL ⁻¹	11,138	(0,756)	13,563	(0,626)	12,712	(0,504)
IC4 ⁴ , mmol.mL ⁻¹	1,128	(0,265)	1,454	(0,407)	1,089	(0,188)
C5 ⁵ , mmol.mL ⁻¹	0,997	(0,046)	0,867	(0,076)	1,048	(0,055)
IC5 ⁶ , mmol.mL ⁻¹	1,597	(0,055)	1,691	(0,084)	1,668	(0,195)
Soma ⁷	100,7	(4,944)	94,4	(4,758)	99,2	(4,986)
C2:C3 ⁸	3,286	(0,099)	3,411	(0,070)	3,298	(0,081)

¹C2: ácido acético; ²C3: ácido propiônico; ³C4: ácido butírico; ⁴IC4: ácido isobutírico; ⁵C5: ácido valérico; ⁶IC5: ácido isovalérico; ⁷Soma: soma dos ácidos; ⁸C2:C3: relação acetato:propionato; Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

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 de pesquisas, obtidos até o presente momento, indicam que o rúmen

encontra-se em balanço de N zero quando a concentração de amônia ruminal é de 7mg.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). Apesar da amplitude no valores citados como ótimos na literatura, é possível sugerir que vacas no patamar de produção observado neste experimento e recebendo apenas suplementação energética apresentam deficiência de N amoniacal no rúmen, o que pode comprometer

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 ureico 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 foi superior para os tratamentos com inclusão de farelo de soja no concentrado.

As concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV) de modo geral 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 consequência, a relação acetato:propionato também não sofreu efeito do acréscimo de PB no concentrado. Isto seria indicativo de que a dieta com concentrado energético (T1), forneceu PB proveniente do pasto, suficiente para maximizar a atividade fermentativa dos microrganismos ruminais. No entanto o valor de N amoniacal não corrobora esta informação, de tal forma a admitir-se novos estudos que avaliem a dinâmica ruminal de vacas lactantes mantidas em pastagens tropicais com as medidas de manejo adotadas neste trabalho.

O acréscimo de proteína verdadeira degradável no rúmen, decorrente da inclusão de farelo de soja na dieta, tende a aumentar 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).

4.6 Excreção e eficiência no uso do nitrogênio

As propriedades dos nutrientes dietéticos influenciam diretamente no seu aproveitamento pelos animais, tornando necessário o correto balanceamento nutricional

a fim de se obter caracteres produtivos desejáveis e reduzir os custos de produção. Quanto maior a degradabilidade da proteína, maior será a produção de amônia e, possivelmente, maiores serão as perdas urinárias de compostos nitrogenados na forma de uréia. Para a redução dessas perdas e aumento do crescimento microbiano, há a necessidade de sincronização entre taxas de degradação de proteínas e carboidratos (RUSSEL et al., 1991).

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 (INTERNATIONAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - 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).

A eficiência de uso do nitrogênio (EUN) de animais recebendo excesso de nitrogênio na dieta diminui, uma vez que o organismo faz uso de energia para excretar os excedentes, podendo acarretar em queda na produção de leite. De acordo com o NRC (1989), para excretar 1 g de nitrogênio em excesso, o organismo animal tem um custo metabólico de 13,3 kcal de energia digestível, que deixa de ser utilizada para produção de leite e síntese de proteína do leite.

Apesar de resultados ainda inconsistentes, tem-se observado nas pesquisas, aumento no número de mortes embrionárias para vacas com excesso de nitrogênio na dieta (REIS; DANÉS, 2011).

O consumo, excreção e eficiência do uso de nitrogênio são apresentados na tabela 17. A excreção de nitrogênio na urina acompanhou o teor de PB nos tratamentos e foi crescente ($p < 0,05$), bem como a quantidade de N excretada (g.dia^{-1})

também apresentou diferenças ($p < 0,05$) para os dados obtidos com o marcador LIPE[®]. Embora os dois marcadores tenham estimados valores semelhantes no consumo de nitrogênio, para cada tratamento, a excreção fecal de nitrogênio só apresentou diferença para os valores estimados com uso do LIPE[®]. Esta variação refletiu nos dados de EUN, sendo que os valores obtidos com as estimativas a partir do óxido de cromo se apresentaram destoantes dos dados observados na literatura, que vão de 23 % a 30 % (STONE et al., 1960; HRISTOV, 2009; REIS; DANÉS, 2011)

A EU, com base no indicador LIPE[®], relatada no presente trabalho pode ser considerada dentro dos padrões observados na literatura, de 24,7% a 27,7% (HUHTANEN; HRISTOV, 2009). A média de produção de leite também foi semelhante aos dados relatados pelos autores (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).

Tabela 18 - Consumo, excreção e eficiência de uso do nitrogênio (EUN) e N retido para vacas recebendo concentrado com três níveis de PB

Parâmetro	T1 (7,88 %PB)	EPM	T2 (15,42 %PB)	EPM	T3 (20,53%PB)	EPM	P
Consumo N , g/d	321,7 c	(3,97)	436,8 b	(5,22)	503,0 a	(4,14)	0,0001
N leite, g/d	117,5	(1,50)	122,4	(1,45)	125,8	(1,51)	0,0609
EUN, %	36,9 a	(0,60)	28,3 b	(0,45)	25,2 c	(0,42)	0,0001
N fezes, %	2,1 b	(0,03)	2,3 a	(0,03)	2,3 a	(0,02)	0,0005
N fezes, g/d	93,2 b	(2,14)	106,7 a	(2,64)	109,6 a	(1,98)	0,0028
N urina, g/d	70,8 c	(0,09)	147,1 b	(0,10)	195,4 a	(0,07)	0,0001
N excretado, g/d	292,7 b	(2,37)	309,8 a	(2,63)	311,3 a	(2,14)	0,0012
N retido	12,50	(1,417)	14,02	(1,187)	14,34	(1,157)	0,6946

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Como era esperado, o nitrogênio total excretado por dia acompanhou o teor de PB das dietas ($p < 0,01$). De modo geral, a excreção de nitrogênio nas fezes é pouco alterada com a manipulação do teor proteico da dieta, e isso tem 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 a

PNDR da das proteínas microbiana e endógena apresentam coeficientes de digestibilidade relativamente constantes.

A proporção do N consumido excretada nas fezes foi de 28,97, 24,42 e 21,79% para os tratamentos 1, 2, e 3. Esses valores são semelhantes ao 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 18) 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, 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). Além disso, quanto maior o teor de PB da dieta, ou quanto maior o desbalanceamento entre energia e proteína, maior é a participação do N ureico no N total da urina, potencializando o problema ambiental, uma vez que o N ureico se converte para amônia e volatiliza em menos de 24 horas (PETERSEN et al., 1998).

Os dados da tabela 18 denotam que o aumento do teor de proteína bruta no concentrado, mediante a inclusão de farelo de soja, proporciona aumento no consumo diário de nitrogênio para vacas no terço inicial da lactação, com produção média de 23,5 kg leite.dia⁻¹. No entanto, não houve incremento na produção de leite, porém a elevação no NUL, N fecal (LIPE[®]) e N urinário caracterizam a redução na eficiência de uso do nitrogênio.

Queda na EUN pode acarretar na diminuição da produtividade dos animais, que terão que fazer uso de energia para excretar o excesso de nitrogênio, além de aumentar a deposição deste elemento na natureza. Além do excesso de nitrogênio

dietético, a queda na EUN também está associada ao desbalanceamento entre energia e proteína no rúmen, com perdas de N caso não haja energia disponível para atividade da microbiota ruminal.

5 CONCLUSÕES

O acréscimo de fonte de nitrogênio no concentrado resultou em maior excreção de nitrogênio no ambiente, na forma de NUL e N urinário, indicativos de redução da eficiência de utilização do nitrogênio dietético para os tratamentos com inclusão de farelo de soja.

Apesar da ausência de significância estatística, para consumo de MS, produção de leite e variação de ganho de peso e de escore de condição corporal, a adição de farelo de soja ao concentrado resultou em valores mais altos para essas variáveis que a suplementação exclusiva com milho. Este fato sugere prudência na recomendação de se fornecer apenas fonte suplementar de energia para vacas no terço inicial da lactação mantidas em pastagens adubadas.

Em vacas mantidas em pastagens tropicais com 15,5% de PB e com 4,63 mg/dl de N-amoniaco no fluido ruminal 4 horas após o fornecimento matinal do concentrado, o aumento do teor de PB do concentrado com a adição de farelo de soja em relação ao milho exclusivo não altera os padrões de fermentação ruminal.

Os dados observados para comportamento e frequência respiratória indicam que vacas leiteiras em ambiente de pastagem estão sujeitas a períodos de estresse calórico durante as horas mais quentes do dia, sendo o fornecimento de áreas de descanso com sombreamento adequado, um fator de relevância no manejo.

REFERÊNCIAS

- AQUINO, A.A. **Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre produção, composição e qualidade do leite**. 2005. 90 p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- AROEIRA, L.J.M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, FAEPE, 1997. p. 127-163.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15nd ed. Washington, 1990. 1422 p.
- BERCHIELLI, T.T.; MAURO, F.R.C.; FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos para determinação da digestibilidade da matéria seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBZ, 1996. v. 3, p. 44-45.
- BIANCA, W. Reviews of the progress of dairy science. Section A. Physiology. Cattle in a hot environmental. **Journal of Dairy Research**, London, v. 32, p. 291-345, 1965.
- BRODERIK, A.G.; CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutrition factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.80, n. 11, p. 2964-2971, 1997.
- BRODERICK, A.G.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 75, p. 2618-2632, 1992.
- CAMARGO, A.C. Produção de leite a pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 13., 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, FEALQ, 1996. p. 437.
- _____. Características da produção de leite na agricultura familiar. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ. 2005. p. 29-42.
- CARVALHO, F.A.; LAMMOGLIA, M.A.; SIMÕES, M.J.; RANDEL, R.D. Breed effects thermoregulation and epithelial morphology in imported and native cattle subjected to heat stress. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 73, p. 3570-3573, 1995.
- CARVALHO, P.C.F. A estrutura da pastagem e o comportamento ingestivo de ruminantes em pastejo In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 2., 1997, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1997. p. 25-52.

- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Glendale, v. 8, p. 130-132, 1962.
- CLARK, H.; KLUUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 75, p. 2304, 1992.
- COMBELLAS, J.; HODGSON, J. Herbage intake and milk production by grazing dairy cows. 1. The effects of variation in herbage mass and daily herbage allowance on short term trial. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 34, p. 209-214, 1979.
- CORDOVA, F.J.; WALLACE, J.D.; PIEPER, R.D. Forage intake by grazing livestock: a review. **Journal of Range Management**, Denver, v. 31, n. 6, p. 430-438, 1978.
- CORSI, M. Potencial das pastagens para a produção de leite. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (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., 1994, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, FEALQ, 1994. p. 87-115.
- CORSI, M.; MARTHA JÚNIOR, G.B. Manutenção da fertilidade do solo em sistemas intensivos de pastejo rotacionado. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 14., 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 161-192.
- Da SILVA, S.C.; NASCIMENTO JR., D. Ecofisiologia de plantas forrageiras. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3., 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2006. p. 1-42.
- Da SILVA, S.C.; PEDREIRA, C.G.S. Fatores predisponentes e condicionantes da produção animal a pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 13., 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1996. p. 319-352.
- DAVISON, T.M.; ELLIOTT, R. Response of lactating cows to grain-based concentrates in northern Australia. **Tropical Grasslands**, Katherine, v. 27, p. 229-237, 1993.
- DAVISON, T.M.; JARRET, W.D.; CLARK, R. Effect of level of meat-and-bone meal and pasture type on milk yield and composition of cows grazing tropical pastures. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 30, p. 451-455, 1990.
- 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**, Melbourne, v. 22, p. 147-154, 1982.

DELGADO, I.; RANDEL, P.F. Supplementation of cows grazing tropical grass swards with concentrates varying in protein level and degradability. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 72, p. 995-1001, 1989.

DERESZ, F.; MOZZER, O.L. Produção de leite de vacas mestiças holandesas X zebu, em pastagem de capim-elefante com diferentes cargas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 17., 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: UFV, 1992. p. 232.

FONTANELI, R.S. **Produção de leite de vacas da raça Holandesa em pastagens tropicais perenes no planalto médio do Rio Grande do Sul**. 2005. 174 p. Tese (Doutorado em Plantas Forrageiras) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

FOX, D.G.; SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; RUSSELL, J.B.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. III. Cattle requirements and diet adequacy. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, p. 3578–3596, 1992.

FUJIHARA, T.E.; ORSKOV, E.R.; REEDS, P.J.; KYLE, D.J. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric infusion. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 109, p. 7-12, 1987.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. In: BERCHIELLI, T.T. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 583.

GORDON, I.J.; ILLIUS, A.W. Foraging strategies: from monocultures to mosaics. In: SPEEDY, A.W. (Ed.). **Progress in sheep and goat research**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 153-178

HODGSON, J. **Grazing management: science into practice**. London: Longman Group, 1990. 200 p.

HONGERHOLT, D.D.; MULLER, L.D. Supplementation of rumen undegradable protein to the diets of early lactation Holstein cows grazing grass pasture. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 81, p. 2204–2214, 1998.

HRISTOV, A.; BRODERICK, G.A. In vitro determination of ruminal protein degradability using (¹⁵N)-ammonia to correct for microbial nitrogen uptake. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 72, p. 1344-1353, 1994.

HUHTANEN, P.; NOUSIAINEN, J.; RINNE, M. Unpublished data. Citado por REIS, R.B; DANÉS, M.A.C. Adequação proteica em rações de vacas em confinamento. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 9. 2011, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba:FEALQ, 2011. p.159-180.

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.

KUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 579 p.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Reviews**, v.3, n.1, p.277-303, 1990.

LIMA, M.L.P.; BERCHIELLI, T.T.; LEME, P.R.; NOGUEIRA, J.R.; PINHEIRO, M.G. Concentração de nitrogênio ureico plasmático (NUP) e produção de leite de vacas mestiças mantidas em gramíneas tropicais sob pastejo rotativo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1616-1626, 2004.

MARAI, I.F.M.; HABEEB, A.A.M.; FARGHALY, H.M. Productive, physiological and biochemical changes in imported and locally born Holstein lactating cows under hot summer conditions of Egypt. **Trop. Anim. Health Prod.** Netherlands, v. 31, p. 233-243, 1999.

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. 121 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

_____. **Avaliação de coprodutos na alimentação de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais durante a estação chuvosa e alimentadas no cocho durante a estação seca do ano**. 2008. 351 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. A study of the artificial fiber bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 88, n. 3, p. 645-665, 1977.

MERTENS, D.R. Analysis of fiber in feeds and its uses in feed evaluation and ration formulation. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES; REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29., 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: SBZ, 1992. p. 188-219.

MULLER, C.J.C.; BOTHA, J.A.; SMITH, W.A. Production, physiological and behavioral responses of lactating Friesian cows to a shade structure in a temperate climate. In: INTERNATIONAL DAIRY HOUSING CONFERENCE, 3., 1994, St. Joseph. **Proceedings...** St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1994. p. 597-588.

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

NASCIMENTO FILHO, V.F.; ABDALLA, A.L.; KORNDORFER, C.M. Sensibilidades analíticas de diferentes modos de excitação em fluorescência de raios X para medida de traçadores em fezes de animais. In: ENCONTRO CIENTÍFICO DOS PÓS-GRADUANDOS DO CENA/USP, 3., 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CENA, 1997. p. 69.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7th ed. Washington: National Academy of Science, 1996.

_____. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 363 p.

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

NOLLER, C.H. Nutritional requirements of grazing animals. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1997. p. 189-208.

OLIVEIRA, D.E.; PRATES, E.R. Utilização dos componentes da cera das plantas, em especial os n-alcanos, em estudos de nutrição de ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 549-557, 2000.

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.

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.

OSER, B.L. (Ed.). **Hawk's physiological chemistry**. 14th ed. New York: McGraw-Hill, 1965. 404 p.

OVERTON, T.R.; WALDRON, M.R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 87, p. E105-E119, 2004.

PACIULLO, D.S.C.; AROEIRA, L.J.M.; DERESZ, F. Disponibilidade de material seca e consume de forragem de vacas em lactação em pastagem de capim-elefante. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. 1 CD-ROM.

PARDO, R.M.P. **Efeitos de níveis crescentes de suplemento energético em bezerros de corte em pastejo**. 2001. 81 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2001.

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

PIRES, M.F.A.; FERREIRA, A.M.; COELHO, S.G. Estresse calórico em bovinos de leite. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO E NUTRIÇÃO DE GADO LEITEIRO, 1998, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SBMA, 1998. p. 17-30.

POND, K.R.; ELLIS, W.C.; MATIS, J.H. Passage of chromium-mordanted and rare earth-labeled fiber: time of dosing kinetics. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 67, n. 4, p. 1020-1028, 1989.

PRESTON, T.R. Tropical animal feeding: a manual for research workers. In: _____. **Biological and chemical analytical methods**. Rome: FAO, 1995. chap. 9, p. 181-264.

REEVES, M. 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.

REIS, R.B.; SAN EMETERIO, F. Effects of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 84, p. 429-441, 2001.

RODRIGUES, A.L.; BEZERRA, W.M.A.X.; De SOUZA, B.B. **A influência do ambiente quente sobre os parâmetros fisiológicos de vacas leiteiras**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/artigos-tecnicos/sistemas-de-producao/a-influencia-do-ambiente-quente-sobre-os-parametros-fisiologicos-de-vacas-leiteiras-57366n.aspx>>0. Acesso em: 23 abr. 2011.

ROSSAROLLA, G. **Comportamento de vacas leiteiras da raça holandesa, em pastagem de milheto com e sem sombra**. 2007. 46 p. Dissertação (Mestrado em

Zootecnia) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

SALIBA, E.O.S. Uso de Indicadores: passado, presente e futuro. In: TELECONFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 1., 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 2005. p. 4-22.

SAN EMETERIO, F.; REIS, R.B.; CAMPOS, W.E.; SATTER, L.D. Effect of coarse or fine grinding on utilization of dry or ensiled corn by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 83, p. 2839-2848, 2000.

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.

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

SAS INSTITUTE. **SAS users guide**: statistics, version 5 edition. Cary, 1999.

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

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.

STOBBS, T.H. The effect of plant structure on the intake of tropical pasture. 2. Differences in sward structure, nutritive value, and bite size of animals grazing *Setaria anceps* and *Chloris gayana* at various stages of growth. **Australian Journal of Agricultural Research**, East Melbourne, v. 24, p. 821-829, 1973.

_____. Milk production, milk composition, rate of milking and grazing behavior of dairy cows grazing two tropical grass pasture under a leader and follower systems. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, East Melbourne, v. 18, p. 5-11, 1978.

STOBBS, T.H.; MINSON, D.J. Nutrition of ruminants in the tropical. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **Digestive physiology and nutrition of ruminants**. Oregon: Bookstores, 1980. v. 3, p. 257-277.

STÖBER, M. Identificação, anamnese, regras básicas da técnica de exame clínico geral. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. cap. 2, p. 44-80.

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**, Savoy, v. 43, p. 1275-1281, 1960.

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.

TERRA, R.L. História, exame físico e registro dos ruminantes. In: SMITH, B.P. **Tratado de medicina interna dos grandes animais**. São Paulo: Manole, 1993. v. 1, cap. 1, p. 3-15.

UNGAR, E.D. Ingestive behaviour. In: HODGSON, J.; ILLIUS, A. (Ed.). **The ecology and management of grazing systems**. Oxford: Oxford University, 1996. p. 185-218.

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

Van ESPEN, P., JANSSENS, P., SWENTER, S. **1 AXIL-X-ray analysis software**: users manual. Belelux: Packard, s.d. 72 p.

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

VERBIC, J. Factors affecting microbial protein synthesis in the rumen with emphasis on diets containing forages. **Viehwirtschaftliche Fachtagung**, BAL Gumpenstein, v. 29, p.1-6, 2002

VOLTOLINI, T.V. **Adequação proteica 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. 136p. 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.

WOLFF, L.K.; MONTY, D.E. Physiologic responses to intense summer heat stress and its effect on the estrous cycle of non-lactating and lactating Holstein-Friesian cows in Arizona. **American Journal of Veterinary Research**, Arizona, v. 35, p. 187-192, 1974.