

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
COORDENAÇÃO DO CURSO DE ZOOTECNIA

VALDINÉIA ALVES NASCIMENTO

**SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA EM VACAS LEITEIRAS
SUPLEMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DO RESÍDUO DE
FEIJÃO NA RAÇÃO**

PONTES E LACERDA
ABRIL/2016

VALDINÉIA ALVES NASCIMENTO

**SÍNTESE DE PROTEINA MICROBIANA EM VACAS LEITEIRAS
SUPLEMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DO RESÍDUO DE
FEIJÃO NA RAÇÃO**

“Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a Coordenação do Curso de Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL EM ZOOTECNIA”.

Orientadora: Profa. Ma. Angela Aparecida da
Fonseca

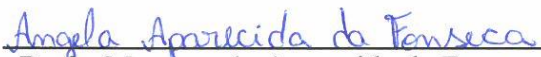
PONTES E LACERDA
ABRIL/2016

VALDINÉIA ALVES NASCIMENTO

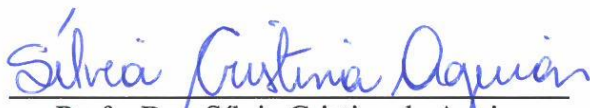
**SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA EM VACAS LEITEIRAS
SUPLEMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DO RESÍDUO DE
FEIJÃO NA RAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado
a Coordenação do Curso de Graduação em
Zootecnia da Universidade do Estado de Mato
Grosso, como parte das exigências para
obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

APROVADO EM: 28/04/2016



Profa. Ma. Angela Aparecida da Fonseca
Orientador/UNEMAT-Pontes e Lacerda



Profa. Dra. Sílvia Cristina de Aguiar
Membro/UNEMAT – Pontes e Lacerda



Prof. Me. Rafael Kill Silveira
Membro/UNEMAT – Pontes e Lacerda

A minha família, a qual sempre me incentivou;
Aos meus filhos Elisangela Cristina Nascimento de Souza e Eliseu Nascimento Nascimento
de Souza;
Ao meu companheiro e amigo de todos os dias Irani Jose da Silva;
Ao meu pai Antonio Oliveira Nascimento;

Dedico-lhes de coração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por ter me dado forças nessa jornada.

Aos professores e membros da Universidade do Estado de Mato grosso.

A minha orientadora e amiga professora ANGELA APARECIDA DA FONSECA por ter cedido parte dos seus dados do mestrado para concretização deste trabalho.

A banca examinadora composta pelo professor Rafael Kill Silveira e professora Sílvia Cristina de Aguiar.

Ao coordenador da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso Leonardo Botini.

Aos meus filhos Elizangela Cristina Nascimento de Souza e Eliseu Nascimento de Souza que desde o começo não medirão esforços e sempre estiveram ao meu lado.

A minha nora Roseli Sanches Floriano pela amizade.

Ao meu amigo e companheiro de todos os dias Irani Jose da Silva.

A minha amiga Ana Paula de Lazari pela paciência que teve comigo nas minhas dificuldades.

Ao meu pai Antônio Oliveira Nascimento pela companhia.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram, direto ou indiretamente.

Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.

(Roberto Shinyashiki)

RESUMO

Objetivou-se avaliar a síntese microbiana de vacas leiteiras submetidas ao pastejo, suplementadas com 13,4; 24,0; 34,8; e 44,9% de resíduo de feijão na ração concentrada. Foram utilizadas oito vacas mestiças, com peso médio de 500 kg distribuídas em dois quadrados latinos 4×4 , simultaneamente. Cada período experimental teve duração de 21 dias, sendo os primeiros 15 dias para adaptação dos animais e os últimos 6 dias para as coletas de dados. Os animais foram manejados em sistemas de pastejo, através do método de pastejo rotativo com lotação fixa. A ração concentrada foi fornecida após as ordenhas da manhã e da tarde, às 6:00 e 16:00 horas, respectivamente. Os resultados foram submetidos à análise variância e de regressão, sendo a escolha dos modelos baseadas na significância dos parâmetros de regressão, testada pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Não foi verificado efeito ($P>0,05$) da inclusão do resíduo de feijão na ração concentrada sobre o volume urinário (12,77 L/animal/dia), alantoína na urina e no leite (82,29 e 5,36 mmol/dia, respectivamente), ácido úrico na urina (23,59 mmol/dia), derivados de purina (104,54 mmol/dia), excreção média de alantoína na urina e no leite em relação a excreção total de derivados de purina (75,09 e 5,15 mmol/dia, respectivamente), purinas absorvidas (274,36 mmol/dia), nitrogênio e a proteína microbiana (172,67 e 1079,23 gramas/dia, respectivamente). Para cada unidade porcentual de inclusão do resíduo de feijão na ração concentrada, foi observado efeito linear crescente ($P<0,05$) de 171 gramas de proteína bruta/kg de nutrientes digestíveis totais sobre a eficiência microbiana. Recomenda-se a inclusão do resíduo de feijão até o nível de 44,9% na ração concentrada, pois aumenta a eficiência microbiana de vacas mestiças em regime de pastejo.

Palavras-chave: Eficiência microbiana. Derivados de purina. Resíduo. Ruminante. Suplementação.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the microbial synthesis of dairy cows submitted to grazing, supplemented with 13.4; 24.0; 34.8; 44.9% of bean residue on concentrate diet. Eight crossbred cows were used, with an average weight of 500 kg distributed in two Latin squares 4×4 simultaneously. Each experimental period lasted 21 days and the first 15 days for animal adaptation and the last six days for data collection. The animals were relocated in grazing systems through rotational grazing method with fixed capacity. The concentrated feed was provided after the morning milking and evening, at 6:00 and 16:00, respectively. The results were subjected to analysis variance and regression, the choice of models based on the significance of the regression parameters tested by Tukey test at 5% probability. There was no effect ($P > 0.05$) the inclusion of the bean residue on concentrated diet on urinary volume (12.77 L/animal/day) allantoin in the urine and milk (82.29 and 5.36 mmol/day, respectively), uric acid in the urine (23.59 mmol/day), purine derivatives (104,54 mmol/day), medium excretion of allantoin in the urine and milk on the total excretion of purine derivatives (75.09 and 5.15 mmol/day, respectively), absorbed purines (274.36 mmol/day), nitrogen and microbial protein (172.67 and 1079.23 grams/day, respectively). For each percentage unit including bean residue in concentrated feed, it was observed linear increase ($P < 0.05$) in 171 grams of crude protein / kg of total digestible nutrients on microbial efficiency. It is recommended to include the bean residue to the level of 44.9% in the concentrated feed, it increases the microbial efficiency of crossbred cows grazing regime.

Keywords: Microbial efficiency. Purine derivatives. Residue. Ruminant. Supplementation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 SUPLEMENTAÇÃO COM USO DE CONCENTRADO PARA VACAS LACTANTES EM PASTAGENS TROPICAIS	11
2.2 RESÍDUO DE FEIJÃO (<i>PHASEOLUS VULGARIS L.</i>)	12
2.3 DETERMINAÇÃO DO VOLUME URINÁRIO.....	14
2.3 BASES PURINAS.....	15
2.4 DERIVADOS DE PURINAS.....	16
2.5 SÍNTESE MICROBIANA RUMINAL.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5 CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

A intensificação nos sistemas de manejo de pastagens tropicais, por meio da suplementação concentrada aos animais, proporciona redução dos efeitos de estacionalidade na produção de forragem, tornando mais homogênea a oferta de alimento durante o ano, contribuindo no sistema de produção de leite em pastagem. A adoção desta tecnologia proporciona redução na utilização de volumosos conservados nas dietas, permitindo intensificar a produção de leite por área.

Devido à capacidade limitada de oferta de nutrientes por meio das forrageiras, faz-se necessário à utilização de suplementação concentrada desses nutrientes, balanceados de modo a elevar a produtividade leiteira e potencializar a utilização dos nutrientes dietéticos pelos microrganismos ruminais. Nesse sentido, os coprodutos, subprodutos ou resíduos oriundos do beneficiamento e/ou processamento de grãos apresentam-se como alternativa promissora, visando à redução dos custos com a alimentação (MAGALHÃES, 2005).

Dentre estes, destaca-se o resíduo do beneficiamento do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), por apresentar disponibilidades regionais consideráveis, e ser classificado como alimento concentrado proteico (CONAB, 2013). Em sua composição, o resíduo de feijão apresenta em média, 89% de matéria seca (MS), 23% de proteína bruta (PB), 1,67% de extrato etéreo (EE), 21% de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), 9% de fibra insolúvel em detergente ácido (FDA), 7,81% de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), 1,51% de proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), 5,11% de matéria mineral (MM), 1,4% de lignina (MAGALHÃES, 2005; MAGALHÃES et al., 2008; MARCONDES et al., 2009).

Ao avaliarem a digestibilidade total da proteína bruta e sua divisão em proteína degradada no rúmen (PDR) e proteína não degradada no rúmen (PNDR) de alimentos utilizados na alimentação de ruminantes, Marcondes et al. (2009) observaram que o feijão bandinha apresentou como fonte alimentar de PDR. Os autores constataram que o feijão bandinha apresenta em média 96,55% de PDR. Segundo o NRC (2001) a síntese de proteína microbiana é dependente da disponibilidade de carboidratos e nitrogênio no rúmen. Portanto, o crescimento microbiano aumenta em função da sincronização entre a disponibilidade de energia fermentável e PDR.

Grande parte das exigências proteica dos ruminantes são atendidas pela proteína microbiana digestível no intestino delgado e pela proteína não-degradável no rúmen, sendo a

proteína microbiana a principal fonte de aminoácidos para estes animais (SOUZA et al., 2006). Portanto, conhecer a eficiência microbiana torna-se necessário para uma adequada formulação de dietas balanceadas em proteína metabolizável para bovinos.

A flexibilidade de utilização do resíduo de feijão está descrita em diversas pesquisas científicas, como fonte de suplementação para bovinos em pastejo (PAIXÃO, 2008; FIGUEIREDO, 2008, PEREIRA NETO, 2013), bovinos e ovinos confinados (MAGALHÃES, 2005; MAGALHÃES et al., 2008; FERRO, 2014) e aditivo para ensilagem de gramíneas tropicais (ANDRADE, 2010; CONCEIÇÃO, 2011), no entanto, ainda há carência de informações a respeito do nível adequado do suplemento contendo resíduo de feijão para vacas em lactação em pastejo sobre a síntese de proteína microbiana.

Nesse sentido, objetivou-se avaliar o volume urinário, excreção de derivados de purina e síntese microbiana de vacas mestiças a pasto suplementadas com ração concentrada com diferentes níveis de resíduo de feijão.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Conhecer a eficiência microbiana torna-se necessário para uma adequada formulação de dietas balanceadas em proteína metabolizável para bovinos e para o desenvolvimento de modelos dinâmicos que se apliquem às condições brasileiras de forma a permitir a obtenção de predições mais acuradas da síntese microbiana ruminal (SOUZA et al., 2006).

2.1 SUPLEMENTAÇÃO COM USO DE CONCENTRADO PARA VACAS LACTANTES EM PASTAGENS TROPICAIS

Nos animais ruminantes, os aminoácidos que chegam ao duodeno são provenientes da proteína microbiana sintetizada no rúmen, da proteína não degradada no rúmen e da proteína endógena (descamações celulares, sucos digestivos, entre outros) (VALADARES FILHO, 1995; BARBOSA et al., 2006).

Adicionalmente, Santos e Mendonça (2011), postularam que os ruminantes suprem suas necessidades proteicas através da proteína do alimento ingerido que passa intacta pela degradação ruminal e é digerida pelo sistema digestivo do animal. A degradação da proteína, no rúmen, ocorre pela ação de enzimas (proteases, peptidases e deaminases) secretadas pelos microrganismos ruminais. Esses microrganismos degradam a fração da proteína degradável no rúmen e utilizam peptídeos, aminoácidos e amônia para a síntese de proteína microbiana e multiplicação celular. A proteína microbiana é, normalmente, a principal fonte de proteína metabolizável para ruminantes, seguida da proteína não degradável no rúmen e da proteína endógena.

De acordo com os autores supracitados, dieta deficiente em proteína degradável no rúmen ou com excesso reduz a proteína microbiana e, conseqüentemente, o teor e a produção de proteína no leite. Quando os aminoácidos não são utilizados para a síntese de proteínas ou de outros aminoácidos, o seu grupamento amino (NH_3^+) é convertido à ureia (ciclo da ureia) e excretado via urina e leite. O NRC (2001) de gado de leite considera que para cada kg de proteína microbiana produzida no rúmen é necessário 1,18 kg de proteína degradável no rúmen.

Quanto ao efeito no desempenho, conforme revisto por Santos et al. (2003), reunindo trinta e sete trabalhos que utilizaram suplementação com concentrado para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais, observou-se produção de 13,8 kg de leite/animal/dia com fornecimento médio de 3,5 kg de concentrado/animal/dia. Considerando apenas os trabalhos que relataram produção de leite superior a 20 kg/animal/dia, com média de 22,78 kg de leite/animal/dia, a quantidade média de concentrado oferecida foi de 6,45 kg/animal/dia.

2.2 RESÍDUO DE FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS L.*)

A legislação nacional de acordo com o Decreto nº 76.986 de 6 de janeiro de 1976, revogado pelo Decreto nº 6.296 de 11 de dezembro de 2007, define que subprodutos e resíduos são alimentos que não possuem uma padronização qualitativa, necessitando serem caracterizados com maiores detalhes quanto aos valores biológicos, através de estudos científicos, possuindo na maioria das vezes, menor valor de mercado (BRASIL, 2007).

O feijão comum é cultivado em mais de 100 países, porém 63% da produção mundial são obtidas em apenas cinco países, sendo o Brasil o maior produtor e consumidor do feijão (MAPA, 2012). De acordo com a quantidade de feijão produzido no país, conclui-se que a geração de resíduo de limpeza seja elevada (MAGALHÃES, 2005). De acordo com o MAPA (2012), a safra do grão é distribuída em três etapas, safra águas (outubro a fevereiro), safra seca (dezembro a março) e a safra irrigada (abril a junho), portanto esse resíduo se encontra disponível ao longo do ano.

Na tabela 2 encontra-se a variação da produtividade de feijão nas diferentes regiões brasileira, sendo a região Centro-Oeste responsável pelo maior produtividade (kg/ha) de feijão.

Tabela 5. Comparativo da produtividade nas diferentes regiões brasileira (kg/ha) na safra 2012/2013 à safra 2013/2014.

Regiões	Produtividade (kg/ha)		
	Safra 12/13	Safra 13/14	Variação(%)
Norte	762	775	1,6
Nordeste	314	428	36,2
Centro-Oeste	1.637	1.765	7,8
Sudeste	1.461	1.616	10,6
Sul	1.398	1.621	16,0

Fonte: Adaptado da CONAB (2013).

Referindo-se à qualidade nutricional, o resíduo de feijão pode ser classificado como alimento proteico e sua composição apresenta, em média, 89% matéria seca (MS), 23% proteína bruta (PB), 1,67% de extrato etéreo (EE), 21% de fibra em detergente neutro (FDN), 9% de fibra em detergente ácido (FDA), 7,81% de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), 1,51% de proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), 5,11% de matéria mineral (MM), 1,4% de lignina (MAGALHÃES, 2005; MAGALHÃES et al., 2008; MARCONDES et al., 2009).

O conteúdo total de proteína presente no feijão é composto principalmente por globulinas, seguidas por albuminas, pelas glutelinas em teores muito baixos, e pelas prolaminas praticamente ausentes. Os fatores anti-nutricionais do feijão encontram-se distribuídos da seguinte forma: na fração albumina, encontram-se as enzimas do metabolismo das sementes e inibidores enzimáticos (anti-tripsina, anti-quimotripsina, anti alfa-amilase pancreática e outras), enquanto que na globulina, fração bastante resistente proteólise, encontram-se as lectinas ou hemaglutininas bastante ativas, as quais representam de 2 a 10% das proteínas do feijão. Além destes, o feijão contém taninos, fitatos e saponinas (SGARBIERI, 1996).

Mesquita et al. (2007) ao avaliarem linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) constataram grande variação da presença de compostos fenólicos (64%) e inibidores de tripsina (40%) conforme a linhagem do feijão. Paixão (2008) ressalta que os efeitos dos fatores antinutricionais presente no feijão ainda não foram elucidados em animais ruminantes, sendo aplicada somente em animais não ruminantes, havendo, desta forma, necessidade de mais estudos.

Ao analisar o resíduo de feijão, Nunes (1998) caracterizou-se como produto de baixa palatabilidade e digestibilidade, e apresentou as seguintes recomendações: inclusão de até 15% e de 20 a 25% em concentrados destinados a bovinos e ovinos em engorda, respectivamente, não sendo relatada nenhuma indicação para vacas em lactação em seus estudos.

Embora haja pesquisa utilizando o resíduo de feijão como fonte de suplementação para bovinos em pastejo (PAIXÃO, 2008; FIGUEIREDO, 2008, PEREIRA NETO, 2013), bovinos confinados (MAGALHÃES, 2005; MAGALHÃES et al., 2008), aditivo para ensilagem de gramíneas tropicais (ANDRADE, 2010; CONCEIÇÃO, 2011), ovinos em confinamento (FERRO, 2014; CASTRO, 2015) não foi observado nenhum trabalho que definiu o nível adequado do suplemento contendo resíduo do feijão para vacas em lactação sob pastejo.

Portanto, o desenvolvimento de novos trabalhos que definam o percentual de inclusão do resíduo do beneficiamento do feijão na alimentação de ruminantes torna-se necessário.

2.3 DETERMINAÇÃO DO VOLUME URINÁRIO

Para reduzir os erros que são atribuídos à variação do volume urinário, Chen e Gomes (1992) relataram que as coletas de urina deveriam ser realizadas durante pelo menos cinco dias consecutivos. Entretanto, Valadares et al. (1997), ressaltam que período de coleta com duração de 24 horas podem representar a produção urinária total.

Além da utilização do método não invasivo para medir a produção de proteína microbiana utilizando coletas de urina com duração de 24 horas, outro grande avanço é a possibilidade de se estimar o volume urinário com uma única amostra de urina, denominada amostra *spot*, comumente obtida quatro horas após a alimentação, o que possibilita utilizar este método a campo, facilitando as coletas conforme descrito por Valadares et al. (1999). Bezerra et al. (2010) relatam que a coleta de amostra *spot* de urina, permite avaliar o volume urinário do animal. Sendo a coleta realizada quatro horas após a alimentação, pois este período corresponde ao platô de concentração plasmática e urinária dos compostos nitrogenados.

A creatinina é formada no músculo pela remoção de água da creatina-fosfato, originada do metabolismo do tecido muscular (HARPER et al., 1982 apud CHIZOTTI, 2004). A produção e excreção de creatinina são relativamente constantes em função do peso vivo, e sendo assim, a creatinina torna-se o marcador mais utilizado para estimar a excreção diária de urina, também pelo fato de ser pouco ou não afetado por fatores dietéticos (VALADARES FILHO et al., 2007). No entanto, como a creatinina é sintetizada no tecido muscular e a proporção de tecidos em animais em desenvolvimento é variável, a excreção diária de creatinina, expressa em função do peso vivo do animal, pode ser diferente em animais de idade ou peso vivo distinto.

A relação derivado de purina/creatinina é dependente da ingestão de alimentos e do fluxo intestinal de purinas microbianas, podendo, dessa forma, ser utilizada como indicador para estimar o fluxo intestinal de nitrogênio microbiano. Sendo assim, a relação direta entre os derivado de purina/creatinina pode somente ser comparada dentro do mesmo animal ou

entre animais do mesmo peso corporal, visto que, a excreção diária de creatinina na urina é em função do peso corporal (CHEN e ORSKOV, 2003).

Bezerra et al. (2010) ressaltam que o desenvolvimento de métodos que permitam coletar e estimar o volume urinário em menor tempo possível, sejam menos invasivos, como é o caso da coleta de urina *spot*, que pode ser utilizada como estimativas baseadas na excreção de creatinina, excreções de derivados de purina e da produção de proteína microbiana, torna-se fundamentais na avaliação da síntese microbiana em ruminantes.

Segundo Valadares et al. (1999), a coleta *spot* de urina para quantificar o volume de urina e a produção de nitrogênio microbiano, baseado na excreção de creatinina, apresentou-se semelhante à coleta total de urina.

Silva et al. (2001) e Oliveira et al. (2001), ao analisarem diferentes métodos de coletas de urina (total e *spot*) sobre o volume urinário, excreção de derivados de purina e produção de N-microbiano, em vacas leiteiras consumindo dietas com níveis crescentes de uréia, observaram que não houve diferença significativa entre os métodos de coleta. Sendo assim, os autores concluíram que a coleta *spot* de urina pode ser utilizada para estimar o volume urinário, excreção de derivados de purina e produção de N-microbiano.

Chizzotti et al. (2007) ao compararem as metodologias de coletas de urina *spot* e total para quantificação do fluxo de nitrogênio microbiano, em vacas leiteiras com diferentes níveis de produção de leite (baixa, média e alta), observaram que não houve diferenças entre as médias do volume urinário e da excreção de ureia e de derivados de purina obtidos pela coleta total ou estimados pela coleta *spot*. Portanto, os autores constataram que não houve efeito das diferentes metodologias no fluxo e na eficiência de síntese de proteína microbiana, logo, a coleta *spot* possibilitou estimar a excreção de derivados de purina e ureia em todos os níveis de produção de leite estudados.

Barbosa et al. (2006) também não constaram diferença significativa entre a produção de compostos nitrogenados microbianos, expressa em g N/dia, obtidos pela coleta total e pela estimativa via coleta *spot* de urina nos dois níveis de concentrado (25 ou 50%) e nas quatro categorias de bovinos (novilhas, machos inteiros e não inteiros ou vacas em lactação).

2.3 BASES PURINAS

As bases purinas são os constituintes dos ácidos nucléicos presentes no ácido ribonucleico (RNA) e no ácido desoxirribonucleico (DNA) de todos os seres vivos. Os ruminantes podem ingerir quantidades significativas de ácidos nucléicos da dieta, além dos sintetizados pela microflora ruminal. No entanto, os ácidos nucléicos presentes na dieta e seus derivados são rapidamente degradados no rúmen e, portanto, não irão contribuir de forma significativa com o total de ácidos nucléicos que chegam ao duodeno (MCALLAN, 1982). Broderick e Merchen (1992) relatam que não há nenhum marcador completamente adequado, desta forma as estimativas obtidas são relativas e não absolutas. Contudo, os autores indicam as purinas totais como um marcador microbiano confiável.

2.4 DERIVADOS DE PURINAS

Os derivados de purina urinários compreendem hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína, os quais estão presentes na urina de ovinos, caprinos, cervídeos e lhamas, enquanto que apenas ácido úrico e alantoína são excretados por bovinos e bubalinos. Isso ocorre devido à ação da xantina oxidase na mucosa intestinal, degradando, as bases púricas a seus derivados mais distantes (ácido úrico e alantoína) (CHEN e GOMES, 1992).

A excreção de derivados de purina na urina (alantoína e ácido úrico, xantina e hipoxantina) constitui uma alternativa, de técnica simples e não invasiva suportada pelo princípio de que a excreção urinária dos derivados de purina provém de ácidos nucléicos que fluem do rúmen (GONZÁLES-ROQUILLO et al., 2004).

Os ácidos nucléicos que deixam o rúmen são basicamente de origem microbiana. Isto porque os alimentos dos ruminantes apresentam um baixo conteúdo de purinas e a maior parte deles sofre extensa degradação no rúmen, resultado da fermentação microbiana. No intestino delgado, os nucleotídeos das purinas são hidrolisados em purinas, nucleosídeos e bases livres e ambas as formas podem ser absorvidas. Os nucleosídeos purínicos e as bases livres absorvidas no intestino estão sujeitas a degradação bem como a utilização pela mucosa intestinal (CHEN e GOMES, 1992).

A enzima-chave na degradação de purinas é a xantina oxidase, que converte hipoxantina e xantina em ácido úrico. Este, então, consiste no produto final do catabolismo das purinas, porém, na maioria dos mamíferos, o ácido úrico é degradado ao produto de excreção alantoína pela ação da uricase (LENINGHER et al., 1995). Segundo CHEN e GOMES (1992), na urina

de bovinos apenas alantoína e ácido úrico estão presentes, devido à grande atividade de xantina oxidase no sangue e tecidos, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico antes da excreção.

Ao avaliar níveis crescentes de nitrogênio não protéico (2,08; 4,01; 5,76; e 8,07%) em dietas de vacas lactantes (Holandês x Gir), Silva et al. (2001) observaram que as excreções urinárias de ureia, alantoína, ácido úrico, derivados de purina, purinas absorvidas e a produção de nitrogênio microbiano não foram influenciadas pela dieta. As excreções diárias estimadas de ureia, alantoína e ácido úrico seguiram o mesmo padrão obtido pela coleta de 24 horas de duração. Desta forma os autores concluíram que a amostra *spot* de urina pode ser utilizada para estimar, satisfatoriamente, a excreção de derivados de purina e, conseqüentemente, a produção de nitrogênio microbiano.

Pimentel et al. (2012) ao examinarem a concentração de derivados de purinas na urina de vacas leiteiras alimentadas com teores crescentes de castanha de caju na dieta (0; 8; 16 e 24%), observaram que as excreções de derivados de purina na urina não variaram significativamente, podendo ser considerado como substituto dos ingredientes convencionais milho e farelo de soja nos concentrados para vacas leiteiras em lactação.

Oliveira et al. (2001) ao trabalharem com vacas Holandesas em lactação recebendo níveis crescentes de compostos nitrogenados não proteicos (NNP) na dieta (2,22; 4,18; 5,96; e 8,09%), constataram que a concentração de alantoína no leite decresceu linearmente, variando de 13,47 a 11,50 mmol/dia, quando o NNP aumentou de 2,22 para 8,09% da dieta. A excreção de creatinina não foi afetada pelos níveis de nitrogênio não proteico na dieta (23,41 mg/kg PV), enquanto as concentrações de ureia e N-ureico no plasma e no leite aumentaram linearmente com os níveis de nitrogênio não proteico na ração (35,52 a 49,52 mg.dL⁻¹; 16,43 a 23,08 mg.dL⁻¹; e 22,09 a 27,46 mg.dL⁻¹), respectivamente.

2.5 SÍNTESE MICROBIANA RUMINAL

Na suplementação proteica dos ruminantes, torna-se fundamental estimar a síntese de proteína microbiana ruminal e sua contribuição em aminoácidos digestíveis para o animal. Dentro deste contexto o NRC (2001) destaca que quantidades adequadas de proteína degradável no rúmen são fundamentais para obter uma ótima eficiência de síntese microbiana. No entanto, além da disponibilidade de nitrogênio em quantidades suficientes, o sincronismo

com a disponibilidade de energia no rúmen é indispensável para que não prejudique a síntese de proteína microbiana. Rennó et al. (2000) ressaltam que a disponibilidade de energia e nitrogênio são os fatores que irão influenciar a produção microbiana, sendo assim, a relação volumoso:concentrado na dieta pode limitar o crescimento microbiano, em virtude da quantidade de energia disponível.

A maioria das técnicas utilizadas para mensurar o fluxo de nitrogênio microbiano necessita de animais preparados cirurgicamente, aumentando o interesse no desenvolvimento de técnicas não invasivas. Neste sentido, a excreção de derivados de purinas tem se destacado como um método simples e não invasivo, para estimar a produção de proteína microbiana (BEZERRA et al., 2010).

A estimação do aporte de nitrogênio microbiano tem sido realizada por diversas técnicas baseadas no uso de diferentes marcadores ou indicadores microbianos. Os marcadores internos estão naturalmente presentes na célula microbiana: ácido diaminopimélico – DAPA, ácidos nucleicos (RNA) – purinas e pirimidinas, ácidoaminoetilfosfônico – AEPA, ou são introduzidos na célula microbiana durante seu crescimento, que são os marcadores externos: isótopos radioativos, N^{15} , S^{35} para marcação de proteínas e P^{32} para marcação de fosfolipídios (BRODERICK e MERCHEN, 1992).

Pesquisas demonstram que há relação entre o fluxo duodenal de bases purínicas e a excreção urinária de derivados de purinas (CHEN et al., 1990; GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003). Portanto, assume-se que a absorção de purinas esteja dependente da quantidade de proteína microbiana, e sendo assim, pode ser estimada através da excreção urinária de derivados de purinas: alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina (GIESECKE; EHRENTREICH e STANGASSINGER, 1994), tornando necessária a utilização de animais fistulados no abomaso ou no intestino delgado. Em consequência disso, tem havido interesse crescente no desenvolvimento de técnicas não invasivas para estimar a produção de proteína microbiana.

A proteína metabolizável no intestino dos ruminantes é representada pelo total de aminoácidos provenientes da digestão intestinal da proteína microbiana produzida no rúmen, da proteína não degradada no rúmen de origem alimentar e da proteína endógena. A proteína microbiana é a principal fonte de proteína metabolizável para ruminantes. Pode representar cerca de 45 a 55% da proteína metabolizável no intestino de vacas leiteiras de alta produção, 55 a 65% em bovinos de corte confinados com rações ricas em energia e mais de 65% em bovinos mantidos exclusivamente a pasto. Portanto, todo e qualquer programa nutricional só

terá sucesso se a produção de proteína microbiana for otimizada (SANTOS e PEDROSO, 2011).

A importância da proteína microbiana na nutrição de ruminantes está relacionada ao fato desta ser uma fonte de alta qualidade de aminoácidos disponíveis para a absorção, possuir uma digestibilidade aparente intestinal de aproximadamente, 85% e um perfil de aminoácidos essenciais semelhantes àqueles do leite e dos tecidos (CASTAÑEDA e PEÑUELA, 2011).

Os aminoácidos são classificados em aminoácidos essenciais e aminoácidos não essenciais. Os aminoácidos essenciais (isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) não são sintetizados pelo organismo do animal, ou são sintetizados (arginina e histidina) em quantidade insuficiente para suprir as exigências. Os aminoácidos não essenciais (alanina, ácido aspártico, asparagina, cisteína, ácido glutâmico, glutamina, glicina, prolina, serina e tirosina) são aqueles que podem ser sintetizados pelo tecido animal a partir de metabólitos do metabolismo intermediário e de grupamentos amino provenientes do excesso de aminoácido (SANTOS e PEDROSO, 2011).

De acordo com Schwab et al. (1976), a lisina e a metionina são os aminoácidos mais limitantes para a síntese de proteína do leite. Diante disso, Rulquin et al. (1995) e Schwab (1996), compararam os três métodos de determinação das exigências de aminoácidos e concluíram que os mesmos fornecem resultados similares e que a porcentagem de lisina e metionina na digesta duodenal para maximizar a produção e o teor de proteína no leite em relação ao total de aminoácidos essenciais seria de 15 e 5%, respectivamente, quando se utilizam dietas convencionais, o que significa manter a relação de lisina: metionina de 3:1.

Van Soest (1994) relata que quando o valor biológico da proteína da dieta é alto, a degradação microbiana que ocorre no rúmen pode reduzir esse valor biológico, isto porque em dietas altamente proteicas, a proteína excedente é transformada em amônia, que é absorvida pela parede ruminal, transportada para o sangue e, posteriormente, para o fígado, onde parte é excretada na urina como ureia, parte da ureia retorna via parede do rúmen e parte da ureia é transportada para a saliva.

A amônia ruminal, resultante do processo de proteólise bacteriana, que não é incorporada aos ácidos nucléicos, aminoácidos ou, eventualmente à proteína microbiana, é absorvida através da parede do rúmen, rota principal para a amônia que não foi assimilada pelos microrganismos. Em seguida, é transportada através do sistema vascular porta-hepático para o fígado, onde é convertida em ureia (DEPETERS e FERGUSON, 1992), constituindo a principal forma pela qual o nitrogênio é eliminado do organismo dos mamíferos. Nos

ruminantes, parte da ureia sanguínea é reciclada para o rúmen através da saliva ou por difusão através do epitélio ruminal, e outra parte excretada na urina (LOBLEY et al., 1995).

A potencialidade de reciclagem da ureia para o rúmen eleva-se quando esse composto está presente em alta concentração sanguínea, havendo grande atividade de urease ruminal, diminuição da concentração ruminal de amônia e redução do pH do rúmen (SIDDON et al., 1985). Nesse sentido, a excreção urinária de derivados de purinas pelos ruminantes pode ser utilizada para estimar o fluxo intestinal de proteína microbiana. O fluxo duodenal de ácido nucléico é predominantemente de origem microbiana e, após a digestão intestinal das bases purinas (adenina e guanina) microbiana, estas são catabolizadas e excretadas proporcionalmente à quantidade produzida (CHEN e GOMES, 1992; MOSCARDINI et al., 1998).

As estimativas das exigências de proteína dietética para ruminantes são complexas, em virtude das transformações que ocorrem em nível de rúmen, e dentro deste contexto, é necessário considerar o requerimento de nitrogênio e de energia para síntese proteica microbiana. Portanto, através dos teores de nitrogênio ureico no soro e no leite é possível aferir informações sobre o status nutricional proteico dos ruminantes, o qual permite evitar perdas econômicas advindas do fornecimento inadequado de proteína na dieta (devido aos elevados custos destes suplementos) e aos possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais (CHIZZOTTI, 2004).

A produção de proteína microbiana afeta a quantidade e a qualidade da proteína que chega ao intestino delgado, tornando-se necessário estimar a síntese de proteína microbiana ruminal e sua contribuição em aminoácidos digestíveis para os ruminantes (MOSCARDINI et al., 1998).

Segundo Ipharraguerre e Clark (2005) a resposta de vacas à suplementação proteica é variável, o que pode ser dependente da fonte de proteína da dieta controle, sua proporção, pela fonte de proteína não degradada no rúmen da dieta experimental e pelo efeito da fonte de proteína sobre o fluxo ruminal de proteína microbiana, o qual corresponde a melhor fonte de aminoácidos disponíveis para a síntese e produção de leite.

Ao avaliarem a síntese de proteína microbiana e concentrações de ureia em vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína (FS - farelo de soja; FA38 - farelo de algodão 38%PB; FA28 - farelo de algodão 28%PB e FSU - farelo de soja + 5% de ureia/sulfato de amônia na matéria secado concentrado) e silagem de milho como volumoso, Pina et al. (2006), constataram que as concentrações de compostos nitrogenados não proteicos no soro e no leite e a eficiência de síntese de proteína microbiana não foram influenciadas pelas

diferentes fontes de proteína na dieta, o que sugere a viabilidade da utilização de concentrado contendo 5% de ureia/sulfato de amônia na MS para animais com produção de 25 kg de leite/dia.

Ao avaliar parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com soja e seus subprodutos, Vasconcelos et al. (2010), concluíram que a utilização de soja crua, soja tostada e farelo de soja em associação a ureia pode ser alternativa na alimentação de vacas em lactação, pois não altera a produção microbiana, porém a adição de grãos de soja crua aumenta o teor de nitrogênio ureico no leite.

Oliveira et al. (2001) ao trabalharem com vacas Holandesas em lactação recebendo níveis crescentes de compostos nitrogenados não proteicos na dieta (2,22; 4,18; 5,96; e 8,09%), constataram que as produções de N-microbiano estimadas (amostra *spot*) e obtidas (coleta total) apresentaram valores máximos de 198,05 e 196,96 g/dia, nos níveis de compostos nitrogenados não proteicos de 5,33 e 4,44%, respectivamente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado em uma propriedade comercial de produção de leite, denominada Fazenda Experimental Risoleta Neves, localizada nas coordenadas geográficas Latitude 21° 06' S e Longitude 44° 15' W e altitude de 889 metros, no município de São João Del Rei, Minas Gerais - MG.

O clima, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwb, subtropical moderado úmido ou tropical de altitude, com duas estações bem definidas (verão quente e úmido e inverno frio e seco). A temperatura média anual foi de 18,5°C, oscilando entre 15 e 22°C, para as médias de mínima e máxima, respectivamente. A umidade relativa do ar teve média de 80% e a precipitação média anual em torno de 1.500 mm.

Foram utilizadas 8 vacas mestiças (Holandês x Zebu), em fase de lactação entre 60 e 90 dias, com peso médio de 500 kg e produção média inicial de 13 kg de leite/dia. Os animais foram distribuídos em duplo quadrados latinos 4x4 (4 tratamentos x 4 períodos), para testar quatro níveis (13,4; 24,0; 34,8; e 44,9%) de inclusão dos resíduos de feijão na suplementação concentrada (Tabela 1), com relação volumoso:concentrado de 80:20. Sendo os quadrados latinos formados de acordo com o período de lactação. Cada período experimental teve duração de 21 dias, sendo os primeiros 15 dias para adaptação às dietas e os 6 últimos dias para coleta dos dados.

Tabela 1 - Composição dos suplementos experimentais.

Ingredientes		Suplementos % da matéria seca			
Resíduo de Feijão	13,4	24,0	34,8	44,9	
Milho Moído	80,8	70,7	60,3	50,8	
Calcário Calcítico	1,5	1,5	1,5	1,5	
Fosfato Bicálcico	0,8	0,8	0,8	0,8	
Ureia Protegida	3,5	3,0	2,5	2,0	

Fonte: Elaborado pela autora.

¹Optigen®

Os animais foram alocados em uma área de 4 ha, dividida em quatro piquetes de capim *BrachiariaBrizantha* cv. Xaraés (2 ha) e quatro piquetes de capim *Panicummaximum* cv. Mombaça (2 ha), providos de bebedouros e saleiros. As alturas de pré e pós pastejo para o capim. Xaraés e capim Mombaça foram de 40 e 20 cm e de 80 e 35 cm, respectivamente. Os animais foram conduzidos no método de pastejo com lotação rotativa e taxa de lotação fixa,

com os animais mantidos em piquetes de 0,5 ha, juntos com os demais animais leiteiros da fazenda. As vacas permaneceram em cada piquete por aproximadamente 3 dias e, após esse período, foram para outro subsequente. Após a saída dos animais de cada piquete foi realizado a adubação de manutenção do pasto com 50 kg de N-P-K (20-05-20). Não houve necessidade de fazer o controle de pragas no pasto.

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia as 6:00 e as 16:00 horas, com auxílio de uma ordenhadeira mecânica. Após a ordenha as vacas foram conduzidas para baias individuais onde receberam suplemento concentrado. A suplementação foi ofertada em 60% no período da manhã e 40% no período da tarde.

O resíduo de feijão foi constituído de grãos avariados dos tipos: inteiros (amassados, enrugados, manchados e despeliculados), partidos (bandinhas sadias) e quebrados (pedaços sadios), além de pequenos resquícios de impurezas, como talos e vagens. Para ser incluído ao concentrado o mesmo foi triturado em moinho tipo martelo utilizando peneira de 5mm. A composição química dos ingredientes dos suplementos experimentais é mostrada na tabela 2.

Tabela 2 - Composição química dos ingredientes utilizados na formulação da ração concentradas.

Ingrediente	Resíduo de feijão	Milho moído
Matéria seca ¹	93,94	90,91
Matéria orgânica ²	95,33	98,43
Matéria mineral ²	4,67	1,57
Proteína bruta ²	20,54	8,10
Fibra insolúvel em detergente neutro ²	18,4	11,56
FDNcp ^{*2}	15,89	10,81
FDNi ^{**2}	2,57	6,31
Extrato etéreo ²	1,32	5,69
Carboidrato total ²	78,47	83,98
Carboidrato não fibroso ²	57,59	73,17

Fonte: Elaborado pela autora.

¹Porcentagem, ²Porcentagem da matéria seca, *Fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; **Fibra em detergente neutro indigestível.

Os suplementos foram formulados a fim de serem isonitrogenados conforme NRC (2001). Nos dois últimos períodos do experimento, os animais receberam suplementação com volumoso à base de cana de açúcar + ureia e sulfato de amônio (na proporção 6:1). Na primeira semana foram utilizados 0,650 kg da mistura ureia + sulfato de amônio misturado com 120 kg de cana de açúcar para adaptação dos animais após a adaptação foi fornecidos 1,3 kg da mistura ureia + sulfato de amônio. Os animais receberam essa suplementação a base de

cana de açúcar em decorrência do período de transição água-seca, em que a produção de forragem do pasto não foi suficiente para atender às necessidades dos animais.

A massa de forragem por período experimental foi obtida através de cortes da forragem no pré-pastejo, aleatoriamente em quatro pontos de cada piquete, com uso de um quadrado de ferro de 1 m². Após o corte da forragem rente ao solo, as amostras foram levadas ao laboratório onde foram pesadas e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 60±1°C por 72 horas para determinação da matéria seca ao ar. Após serem moídas, as amostras laboratoriais da forragem foram armazenadas em potes de plástico para posteriores análises da composição química, apresentadas na Tabela 3.

Os valores de massa de forragem correspondente ao primeiro, segundo, terceiro e quarto período experimental foram 8153,15; 8333,79; 4082,86 e 3157,90 kg de MS/ha, respectivamente.

As amostras dos suplementos e dos ingredientes foram obtidas durante a produção dos suplementos. As amostras das sobras foram coletadas antes de realizar o fornecimento do suplemento aos animais, pela manhã e tarde. Ao final do experimento foram formadas amostras compostas por animal e período para proceder às análises correspondentes. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e pré-secas em estufa de ventilação forçada de ar com temperatura de 60±1°C, por 72 horas. Posteriormente, foram moídas em moinho de faca do tipo Thomas Willey, provido com peneira de malha com crivos de 1mm de diâmetro.

Após serem moídas, as amostras foram armazenadas em potes de plástico para posteriores análises dos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), conforme metodologias descritas por Detmann et al. (2012). O resíduo da fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e compostos nitrogenados (FDNcp) foi determinado conforme Licitra; Hernandez; e Van Soest (1996).

Os carboidratos totais (CT) foram calculados a partir da equação: $CT = 100 - (\%PB + \%MM + \%EE)$, de acordo com Sniffen et al. (1992). Em razão da presença de ureia nas dietas, os CNF foram calculados conforme proposto por Hall (2000): $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ derivada da ureia} + \% \text{ de ureia}) + \% FDNcp + \% EE + \% MM]$, e estão descritos na Tabela 3. A FDNi dos alimentos foi obtida através da incubação *in situ* por 240 horas (CASALI et al., 2008), seguida da análise de fibra em detergente neutro.

Para determinar a síntese de compostos nitrogenados microbianos, foi coletado no 17º dia de cada período experimental amostra *spot* de urina de todos os animais às 4 horas após a

alimentação da manhã (Valadares et al., 1999), sob micção espontânea ou estimulada, utilizando coletores específicos. Após a observação da micção, a urina foi homogeneizada, e em seguida, uma alíquota de 10 mL, foi adicionada a um frasco contendo 40 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 0,036 N, a fim de se reduzir o pH para valores abaixo de 3, evitando-se perdas de nitrogênio e destruição bacteriana dos derivados de purina. Em seguida, as soluções foram acondicionadas em tubos tipo falcon e armazenadas em freezer para posteriores análises de creatinina, alantoína e ácido úrico.

Tabela 3 - Composição química dos suplementos experimentais, do pasto e da cana de açúcar, expresso em % da MS.

Item	Suplemento			
	Nível de inclusão do resíduo de feijão (%)			
	13,4	24,0	34,8	44,9
MS ¹	90,08	89,96	90,42	90,65
MO ²	95,01	95,14	94,02	93,95
MM ³	4,99	4,86	5,98	6,05
PB ⁴	11,11	12,12	15,13	18,09
FDN ⁵	17,33	18,57	22,37	21,70
FDNcp ⁶	17,15	18,35	22,03	21,41
FDNi ⁷	3,05	1,56	1,67	1,43
EE ⁸	3,06	2,11	2,13	0,47
CT ⁹	80,69	80,76	76,62	75,16
CNF ¹⁰	63,54	62,41	54,58	53,75

	Pasto				Cana
	Período1	Período2	Período3	Período4	
MS ¹	19,04	19,21	20,37	20,82	30,43
MO ²	88,43	89,95	87,80	89,86	96,45
MM ³	11,57	10,05	12,20	10,14	3,55
PB ⁴	11,82	9,52	7,65	8,48	1,44
FDN ⁵	77,52	76,80	76,90	73,92	48,57
FDNcp ⁶	75,21	75,05	74,85	72,18	48,23
FDNi ⁷	22,05	23,37	27,39	23,17	23,02
EE ⁸	1,31	2,02	0,94	0,87	1,12
CT ⁹	75,65	78,25	79,05	80,40	93,63
CNF ¹⁰	0,45	2,90	4,20	8,23	45,40

Fonte:Elaborada pela autora.

¹Matéria seca; ²Matéria orgânica; ³Materia mineral; ⁴Proteína bruta; ⁵Fibra em detergente neutro; ⁶Fibra em detergente neutro corrigido para cinza e proteína; ⁷Fibra em detergente neutro indigestível; ⁸Extrato Etéreo;

⁹Carboidratos totais; ¹⁰Carboidratos não fibrosos.

Entre o 20º e 21º dia de cada período experimental foram realizadas coletas de amostras de leite provenientes da ordenha da manhã e tarde, constituídas de forma proporcional à

produção de cada ordenha, totalizando aproximadamente 100 ml cada. Alíquotas das amostras de leite foram desproteinizadas com ácido tricloroacético (10 mL de leite foram misturados com 5mL de ácido tricloroacético a 25%, filtrado em papel-filtro e armazenado a -20°C), para a determinação de alantoína.

As análises de derivados de purina, alantoína (urina e leite) foram realizadas, aplicando-se o método colorimétrico, segundo Fujihara et al. (1987 apud CHEN e GOMES, 1992). Já a determinação do ácido úrico na urina foi realizada com a utilização de kits comerciais (Labtest).

A quantificação do volume urinário de cada animal, utilizado para o cálculo da excreção diária de nitrogênio total, ureia e derivados de purina (alantoína e ácido úrico) na urina foi feita multiplicando-se o valor da excreção média diária de creatinina (24,00 mg/kg PV), obtida para vacas Holandesas e mestiças em lactação, recebendo dieta à base de silagem de milho (AG 1051) com relação volumoso:concentrado de 60:40, com base na matéria seca (MENDONÇA et al., 2004), pelo peso animal e dividindo-se o produto pela concentração de creatinina em mg/L, encontrada na amostra *spot* de urina dos respectivos animais.

A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína (leite e urina) e ácido úrico (urina) excretado. As purinas absorvidas (Y, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (X, mmol/dia), segundo Verbic et al. (1990) por meio da equação: $Y = (X - 0,385 PC^{0,75}) / 0,85$ em que: 0,385 $PC^{0,75}$ = contribuição endógena para a excreção de purinas e 0,85 = recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas.

A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Y, g Nmic/dia), foi calculada em função das purinas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando-se a equação descrita por Chen e Gomes (1992), com exceção da relação N purinas:N total das bactérias de 0,134, conforme Valadares et al. (1999): $Y = 70 X / 0,83 \times 0,134 \times 1000$ em que: 70 = conteúdo de N nas purinas microbianas (mg N/mol); 0,134 = relação N purinas:N total nas bactérias; e 0,83 = digestibilidade das purinas bacterianas.

Dois modelos estatísticos foram utilizados, o primeiro modelo continha os efeitos linear e quadrático dos níveis de inclusão e os efeitos de quadrado latino, animal dentro de quadrado latino e período, conforme a equação abaixo. O segundo modelo foi semelhante ao primeiro, removendo-se apenas o efeito quadrático do nível de inclusão para testar adequadamente o efeito linear de primeiro grau do nível de inclusão.

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_1.x_i + \beta_2.x_i^2 + q_j + a_{k(j)} + p_l + e_{ijkl}$$

em que: Y_{ijkl} = é a observação referente ao i-ésimo tratamento, j-ésimo quadrado latino, k-ésimo animal dentro de quadrado latino j e l-ésimo período; μ = média geral; β_1 e β_2 = são os coeficientes de regressão dos efeitos do tratamento i, i = 1, 2, 3 e 4 com efeitos linear e quadrático, respectivamente; Q_j = efeito do quadrado latino j, j = 1 e 2; a_k = efeito do animal k dentro de quadrado latino, k = 1, 2, 3 e 4; p_l = efeito do período l, l = 1, 2, 3 e 4; e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação.

Os dados foram submetidos à análise de regressão, sendo a escolha dos modelos baseada na significância dos parâmetros de regressão, ao nível de 5% significância utilizando o PROC GLM do SAS (1990).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão do resíduo de feijão na ração concentrada não influenciou ($P>0,05$) o volume urinário, as excreções de alantoína (urina e leite), ácido úrico (urina), purinas totais, a excreção média de alantoína (urina e leite) em relação à excreção total de derivados de purina, purinas absorvidas, nitrogênio microbiano e proteína microbiana, sendo observado, médias de 12,77 L/dia; 75,82 mmol/dia; 5,13 mmol/dia; 23,59 mmol/dia; 104,54 mmol/dia; 82,29 % das DP; 5,36 % das DP; 274,36 mmol/dia; 172,67 g/dia e 1079,23 g/dia, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias, coeficiente de variação (CV) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para as variáveis: volume urinário (V), excreções de alantoína na urina (ALU) e no leite (ALL), ácido úrico na urina (ACU), purinas totais (DP), excreção média de alantoína na urina em relação à excreção total de derivados de purina (ALU % das DP) e no leite (ALL % das DP), purinas absorvidas (PAB), nitrogênio microbiano (Nmic), proteína microbiana (PBmic) e eficiência microbiana (Emic), de acordo com os níveis de inclusão do resíduo de feijão na ração concentrada.

Item	Níveis de inclusão do resíduo de feijão (%)				CV (%)	Valor P ¹	
	13,4	24	34,8	44,9		L	Q
V (L)	11,72	11,86	12,96	14,55	30,54	0,1874	0,6440
ALU (mmol/dia)	79,05	66,35	90,15	67,73	38,64	0,8442	0,6701
ALL (mmol/dia)	5,41	5,21	5,02	4,88	12,07	0,0881	0,9097
ACU (mmol/dia)	25,26	27,38	23,22	18,53	61,59	0,3046	0,5123
DP (mmol/dia)	109,71	98,93	118,39	91,14	36,57	0,5670	0,5659
ALU % das DP (mmol/dia)	81,34	77,15	86,96	83,71	13,84	0,3537	0,8834
ALL % das DP (mmol/dia)	5,48	5,48	4,86	5,63	29,47	0,9309	0,5076
PAB (mmol/dia)	280,86	267,41	290,57	258,60	16,37	0,5574	0,5836
Nmic (g/dia)	176,77	168,30	182,88	162,76	16,37	0,5573	0,5837
PBmic (g/dia)	1104,81	1051,89	1142,98	1017,26	16,37	0,5574	0,5837
Emic 100 g NDT	11,35	11,99	17,33	15,52	20,97	0,0010	0,2872

Fonte: Elaborado pela autora.

* $\hat{Y} = 9,0402 + 0,1710X$ (R^2 0.54)

Ao avaliarem diferentes fontes proteicas na alimentação de vacas Holandesas com produção média de 25 kg de leite/dia, Pina et al. (2006) também observaram que não houve influência da dieta sobre o volume urinário, excreções de alantoína (urina e leite), ácido úrico, purinas totais, e proteína microbiana, sendo relatado médias de 13,92 L/dia; 353,81mmol/dia; 2,93 mmol/dia; 40,62 mmol/dia; 397,38 mmol/dia; e 1627,20 g/dia, respectivamente.

Entretanto, observa-se que numericamente as médias observadas por esses autores são superiores aos valores constatados no presente estudo, possivelmente esse fato se deve ao nível de produção, pois são vacas mestiças (Holandesa x Zebu) com produção média de 13 kg de leite/dia.

Gonzales-Ronquillo et al. (2003) ressaltam que as variações observadas na síntese microbiana estão relacionadas ao suprimento de energia e proteína ao animal hospedeiro, e mudanças na produção de leite, o que justifica a correlação entre a produção de leite e a excreção de derivados de purina.

O valor médio para excreção urinaria de alantoína na urina relatado por Silva et al. (2001), e Souza et al. (2006) utilizando amostra *spot* (291,23 e 294,6 mmol/dia, respectivamente) foi superior ao encontrado no presente trabalho (85,61 mmol/dia) utilizando o mesmo método de coleta. Johnson et al. (1998 apud SILVA et al. 2001) ressaltam que o nível de alantoína e ácido úrico em vacas leiteiras não são constantes em todos os estádios fisiológicos e tratamentos dietéticos.

A secreção média de alantoína no leite (5,13 mmol/dia) constatado no presente estudo apresentou-se inferior aos valores de 11,9 e 13,5 mmol/dia encontrada por Oliveira et al. (2001) e Silva et al. (2001), respectivamente, ao avaliarem a inclusão do nitrogênio não proteico na alimentação de vacas em lactação. Entretanto, Pina et al. (2006) constataram média de 2,93 mmol/dia ao avaliarem diferentes fontes proteicas na alimentação de vacas leiteiras. Já Timmermans Jr. et al. (2000) verificaram valores para excreção de alantoína entre 5,01 a 11,61 mmol/dia, corroborando com os dados registrado no presente estudo, ao avaliarem efeitos de fatores dietéticos sobre a produção de N microbiano. Segundo os autores, a ingestão de matéria seca, ingestão de energia e fluxo de N microbiano no duodeno pode influenciar a secreção de alantoína no leite.

A excreção média de alantoína na urina em relação à excreção total de derivados de purina foi de 75,09%, valor inferior ao relatado por Oliveira et al. (2001) de 85,4% utilizando amostra *spot*. Porém, esteve entre os valores (71,90 a 86,10%) relatado por Silva et al. (2001) obtida por coleta total de urina, no entanto, os autores ressaltam que as excreções estimada de alantoína utilizando amostra *spot* seguiram o mesmo padrão ao observado com coleta total.

A excreção média de alantoína no leite em relação à excreção total de derivados de purina (DP) foi de 5,15%, valor este próximo ao relatado por Oliveira et al. (2001) de 4,5% e semelhante ao valor descrito por Chen e Gomes (1992) que foi de 5%.

A inclusão de resíduo de feijão não influenciou a excreção urinária de ácido úrico, sendo constatado média de 23,59 mmol/dia. Resultado este que se assemelha ao relatado por

Silva et al. (2001) ao estimar a excreção de ácido úrico (23,81 mmol/dia) de vacas em lactação recebendo níveis crescentes de ureia na dieta, utilizando amostra *spot*. Pina et al. (2006) ao analisarem diferentes fontes proteicas (FS - farelo de soja; FA38 - farelo de algodão 38%PB; FA28 - farelo de algodão 28%PB e FSU - farelo de soja + 5% de ureia/sulfato de amônia na MS do concentrado) na alimentação de vacas leiteiras, também observaram que não houve efeito dos tratamentos sobre a excreção do ácido úrico, porém, constatou valor superior (40,62 mmol/dia) ao do presente estudo e do relatado por Silva et al. (2001).

No presente estudo constatou que não houve influência dos níveis de inclusão do resíduo de feijão na ração sobre a excreção total de derivados de purina (DP) e purinas absorvidas (PAB), sendo registradas médias de 104,54 e 274,36 mmol/dia, respectivamente. Comportamento similar, foi observado por Silva et al. (2001), ao avaliarem níveis de nitrogênio não proteico na dieta de vacas em lactação. Os autores descreveram médias de 311,3 e 317,04 mmol/dia, para DP e PAB. Soares et al. (2005) ao analisarem níveis de farelo de trigo na dieta de vacas leiteiras, também observaram que não houve efeito dos tratamentos sobre os DP e PAB, sendo relatado média de 290,50 e 291,30 mmol/dia, respectivamente. Entretanto, observa-se que as médias relatadas pelos diferentes autores se encontram superiores ao do presente estudo. Fato este que pode estar relacionado à produção leiteira e alimentação ofertada aos animais de cada experimento.

Observou-se no presente trabalho, que não houve influência dos níveis de inclusão do resíduo de feijão na ração sobre a produção de nitrogênio microbiano, sendo constatada média de 172,67 g/dia. Comportamento similar foi observado por Magalhães (2005) ao avaliar a inclusão (0, 13, 26 e 39%) do resíduo de feijão em rações completas à base de concentrado e silagem de milho, na alimentação de vacas holandesas com produção diária de 22 kg de leite, o autor constatou média de 185,22 g/dia.

Ao analisarem níveis de nitrogênio não proteico (NNP) na dieta de vacas em lactação, Silva et al. (2001) também verificou que não houve diferença significativa entre os níveis de NNP, constatando média de 199,44 g/dia, no entanto o valor relatado pelos autores encontra-se maior ao observado no presente estudo. Santos et al. (2010) também não observou efeito significativo das fontes proteicas (farelo de soja ou farelo de algodão), nem da quantidade de concentrado (1 ou 2kg) fornecido na dieta de novilhas leiteira, sobre o nitrogênio microbiano, sendo observado média de 85,45 g/dia, porém, observa-se que este valor se encontra inferior ao verificado no presente estudo. Já Oliveira et al. (2001) observaram efeito quadrático em função dos níveis de inclusão do nitrogênio não proteico (NNP) na dieta, sobre o valor

estimado de Nmic. Sendo constatado ponto de máximo de 198,05 g/dia ao nível de 5,34 % NNP na dieta.

A produção de proteína microbiana (PBmic) também não foi influenciado pelo níveis de inclusão do resíduo de feijão na ração, sendo registrado média de 1079,23 g/dia. Magalhães (2005) também observou que não houve influência da inclusão (0, 13, 26 e 39%) do resíduo de feijão em rações completas à base de concentrado e silagem de milho, na alimentação de vacas holandesas com produção diária de 22 kg de leite por dia, sendo constatado média de 1157,75 g/dia.

Pina et al. (2006) ao avaliarem diferentes fontes protéicas (FS - farelo de soja; FA38 - farelo de algodão 38%PB; FA28 - farelo de algodão 28%PB e FSU - farelo de soja + 5% de ureia/sulfato de amônia na MS do concentrado) na alimentação de vacas leiteira, também verificaram que não houve efeito dos tratamentos sobre a produção de proteína microbiana, porém, o valor relatado pelos autores encontra-se superior (1627,20 g/dia) ao do presente estudo.

Observou-se efeito linear positivo ($P < 0,05$) na eficiência microbiana (Emic) de 0,1710 unidade porcentual para cada 1% de inclusão do resíduo de feijão na ração. Resultado este que difere do relatado por Magalhães (2005) ao avaliar a inclusão (0, 13, 26 e 39%) do resíduo de feijão em rações completas à base de concentrado e silagem de milho, na alimentação de vacas holandesas com produção diária de 22 kg de leite. O autor constatou que a eficiência microbiana não foi influenciada pela inclusão do resíduo de feijão, sendo observada média de 108.87 g PB mic/kg NDT consumido.

Ao analisarem diferentes fontes proteicas na alimentação de vacas em lactação, Pina et al. (2006) também não constataram efeito significativo dos tratamentos (diferentes fontes proteicas) sobre a Emic, no entanto observaram diferença numérica para essa variável, que apresentou valor superior para a dieta com farelo de algodão com 28% PB (136,71g PB/kgNDT) e inferiores para farelo de algodão com 38 %PB (118,51g PB/kgNDT). Os autores atribuem essa diferença numérica ao menor teor de carboidrato não fibroso na dieta contendo farelo de algodão com 38%PB, proporcionado pela menor inclusão de fubá de milho.

Possivelmente o comportamento linear crescente da inclusão do resíduo de feijão sobre a eficiência microbiana, se deve a quantidade de fibra presente nos suplementos com maiores níveis de inclusão, o qual proporciona maior estímulo à mastigação, contribuindo para o aumento da produção de saliva e diluição do conteúdo ruminal, aumentando a taxa de passagem do líquido e consequentemente o escape de microrganismos. Segundo Valadares

Filho et al. (2006), a taxa de passagem é um dos fatores que influenciam os padrões de fermentação ruminal e a síntese microbiana.

Segundo Oliveira et al. (2014), dietas com maior proporção de volumoso, ocorre aumento do pH e beneficiamento da atividade das bactérias celulolíticas. Mendes Neto et al. (2007) ressaltam que a atividade de mastigação está correlacionada à taxa de secreção salivar, à solubilização de componentes do alimento e à quebra de partículas, o qual facilita a colonização dessas partículas pelos microrganismos ruminais e a digestão, influenciando diretamente na taxa de passagem, tempo de retenção e, conseqüentemente, na digestibilidade dos alimentos. Portanto, esse fato explica o efeito positivo observado no presente estudo para eficiência microbiana, visto que, a relação volumoso:concentrado utilizada foi de 80:20, e ao incluir os níveis de inclusão do resíduo de feijão observou-se maior concentração de FDN (Tabela 3), o que possivelmente contribui para maior proliferação das bactérias celulolíticas e conseqüentemente maior eficiência microbiana.

Marcondes et al. (2009) ao avaliarem a digestibilidade total da proteína bruta em três taxas de passagens (2, 5 e 8%) e sua divisão em proteína degradada no rúmen (PDR) e proteína não degradada no rúmen (PNDR) de alimentos utilizados na alimentação de ruminantes, verificaram que o feijão bandinha apresentou como fonte de PDR. Os autores constataram em média 96,55% de PDR e 3,45% de PNDR. Portanto, esses dados também contribuem para a justificativa do resultado positivo obtido no presente estudo sobre a eficiência microbiana.

Segundo o NRC (2001) a síntese de proteína microbiana é dependente da disponibilidade de carboidratos e nitrogênio no rúmen. Portanto, o crescimento microbiano aumenta em função da sincronização entre a disponibilidade de energia fermentável e proteína degradada no rúmen. Sendo assim, de acordo com os resultados obtidos neste estudo, conclui-se que houve influência positiva ao aumentar os níveis de inclusão do resíduo de feijão na suplementação sobre o crescimento microbiano. Observa-se que a partir do nível de 24 % de inclusão do resíduo de feijão na ração, a eficiência microbiana esteve acima do recomendado pelo NRC (2001) de 130g de proteína microbiana por quilo de nutrientes digestíveis totais. Sendo os valores estimados para o nível de 24; 34,8 e 44,9% de inclusão do resíduo de feijão, de 131,44; 149,91 e 167,18 g de proteína microbiana por quilo de nutrientes digestíveis totais, respectivamente.

5 CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos sobre a síntese microbiana, conclui-se que se pode utilizar o nível máximo analisado no presente estudo de 44,9% de resíduo de feijão na ração concentrada de vacas leiteiras a pasto.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R.B. **Silagem de Cana de açúcar aditivada com resíduo do beneficiamento do feijão na dieta de ovinos em confinamento**. 2010. 58 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2010.

BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S. de C.; VÉRAS, R.M. L.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MARCONDES, M.I.; SOUZA, M.A. de. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.870-877, 2006.

BEZERRA, L.R.; GONZAGA NETO, S.; OLIVEIRA, J. da S.; SANTOS, E.M.; SILVA, A. M. de A. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.06, n 03, p.07-14, 2010.

BRASIL. Decreto nº 6.296 – de 11 de dezembro de 2007. Dispõe sobre a inspeção e a fiscalização obrigatória dos produtos destinados à alimentação animal, dá nova redação aos artigos 25 e 56 do anexo ao decreto nº 5.053, de 22 de abril de 2004, e dá outras providências. **Diário oficial da união**, Brasília, DF, p.21., 12 dezembro de 2007.

BRODERICK, G.A., MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**. v.75, p.2618-2632, 1992.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES, F.S.C.; PEREIRA, J.C., HENRIQUES, L.T., FREITAS, S.G., PAULINO, M.F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

CASTAÑEDA R.D.; PEÑUELA L.M. Técnicas de quantificação da síntese microbiana no rúmen: uma revisão. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v.6, n.1, p. 46-53, 2011.

CASTRO, W. J. R. de. **Resíduo do beneficiamento de feijão em rações para ovinos**. 2015, 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá-MT, 2015.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives an overview of technical details.** Bucksburnd: RowettResearchInstitute, 1992. 21p (Occasionalpublication).

CHEN, X.B.; HOVELL, F.D. DeB.; ORSKOV, E.R.; BROWN, D. S. Excretion of purine derivatives by ruminants: Effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. **British Journal of Nutrition.** v.63, n.1, p.131-142, 1990.

CHEN, X.B; ORSKOV, E.R. Research on urinary excretion of purine derivatives on ruminants: past, present and future. **International Feed Research Unit**, United Kingdom. p. 1 – 34, 2003.

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

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S. de C.; VALADARES, R.F.D.; CHIZZOTTI, F.H.M.; MARCONDES, M.I.; FONSECA, M.A. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.138-146, 2007.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira grãos**, v. 1 - Safra 2013/14, n. 3 - Terceiro Levantamento, Brasília, p. 1-72, 2013.

CONCEIÇÃO, M.G. **Avaliação do resíduo do beneficiamento do feijão como aditivo da silagem de cana de açúcar.** 2011. 43 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2011.

DETMANN, E.; SOUZA, M. A. de; VALADARES FILHO, S. de C.; QUEIROZ, A. C. de; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. de O. S.; CABRAL, L. da S.; PINA, D. dos S.; LADEIRA, M. M.; AZEVEDO, J. A. G. **Métodos para análise de alimentos.** Visconde do Rio Branco, Minas Gerais: Suprema, 2012. 214p.

DEPETERS, E.J., FERGUSON, J.D. 1992. Non protein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, 75(11):3192-3209.

FERRO, M.M. **Resíduo do beneficiamento do feijão em dietas para ovinos confinados.** 2014. 99p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso, 2014.

FIGUEIREDO, D.M. **Avaliação da suplementação proteica e ou energética sobre o desempenho produtivo e características nutricionais de novilhas de corte em pastejo.** 2008. 120 p. Tese (Doutorado em Zootecnia), Programa de Pós graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2008.

GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.8, p.2376–2381, 1994.

GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.

GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A.; CASTRILLO, C.; MOTA, M. A Comparison of purine derivatives excretion with conventional methods as indices of microbial yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.7, p.2211-2221, 2004.

HALL, M. B. **Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen.** Florida: University of Florida, 2000. p. A-25 (Bulletin 339).

IPARRAGUERRE, I.R.; CLARK, J.H. Impacts of the sources and amount of crude protein on the intestinal supply of nitrogen fractions and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.E22-E37, 2005 (E. Suppl).

LENINGHER, A.L., NELSON, D.L., COX, M.M. 1995. **Princípios de bioquímica.** 2.ed. São Paulo: Savier. 839p.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M. VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347 – 358, 1996.

LOBLEY, G.E., CONNELL, A., LOMAX, M.A. et al. 1995. Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver: possible consequences for amino acid catabolism. **British Journal of Nutrition**, 73(5):667-685.

MAGALHÃES, A.L.R.; ZORZI, K.; QUEIROZ, A.C.; MELLO, R.; DETMANN, E.; PEREIRA, J.C. Resíduo proveniente do beneficiamento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em rações para vacas em lactação: consumo, digestibilidade, produção e composição do leite e eficiência de alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 3, p. 529-537, 2008.

MAGALHÃES, A.L.R. **Resíduo proveniente do beneficiamento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em rações para bovinos.** 2005. 91 p. Tese (Doutorado em Zootecnia), Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2005.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Plano Agrícola e Pecuário 2011-2012.** Secretaria de Política Agrícola. – Brasília : Mapa/SPA, 92 p., 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acessado em: 20 de agosto de 2012.

MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; VALADARES, R.F.D.; COSTA E SILVA, L.F.; FONSECA, M.A. Degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta de alimentos para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2247-2257, 2009.

MCALLAN, A. B. The fate of nucleic acids in ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 41, n. 03, p. 309-316, 1982.

MENDES NETO, J.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; LANA, R.P.; QUEIROZ, A.C.; EUCLYDES, R.F. Comportamento ingestivo de novilhas leiteiras alimentadas com polpa cítrica em substituição ao feno de capim-tifton 85. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.618-625, 2007.

MENDONÇA, S.S.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F.; VALADARES, R.F.D.; SOARES, C.A.; LANA, R.P.; QUEIROZ, A.C.; ASSIS, A.J.; PEREIRA, M.L.A. Balanço de compostos nitrogenados, produção de proteína microbiana e concentração plasmática de ureia em vacas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.493-503, 2004.

MESQUITA, F. R.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P.; LIMA, R. A. Z.; ABREU, A. F. B. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): Composição química e digestibilidade proteica. **Ciência Agrotecnologia**, v.31, n.4, p. 1114 – 1121, 2007.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient of requirements of dairy cattle.** Washington, D.C.: National Academic Press, 2001, 381p.

NUNES, I.J. **Cálculo e avaliação de rações e suplementos.** Belo Horizonte: FEP-MVZ, 1998. 185p.

OLIVEIRA, A.G. de; OLIVEIRA, V.S. de; SANTOS, G.R. de A.; SANTOS, A.D.F.; SANTOS SOBRINHO, D.C. dos; OLIVEIRA, F.L. de; SANTANA, J.A.; GOVEIA, J.S.S. Desempenho de vacas leiteiras sob pastejo suplementadas com níveis de concentrado e proteína bruta. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, p.3287-3304, 2014.

OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO. S. de C.; CECOM, P.R.; RENNÓ, L.N.; QUEIROZ, A.C. de; CHIZZOTTI, M.L. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de ureia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.

PAIXÃO, M.L. **Desempenho produtivo e exigências nutricionais de bovinos de corte em pastagens de Brachiariadecumbens com suplementação proteica.** 2008. 124 p. Tese (Doutorado em Zootecnia), Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2008.

PEREIRA NETO, W.S. **Resposta nutricional e produtiva de vacas leiteiras submetidas a dietas com fontes proteicas.** 2013. 43p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2013.

PIMENTEL, P.G.; REIS, R.B.; LEITE, L.A.; CAMPOS, W.E.; NEIVA, J.N.M.; SATURNINO, H.M.; COELHO, S.G. Parâmetros da fermentação ruminal e concentração de derivados de purina de vacas em lactação alimentadas com castanha de caju. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.959-966, 2012.

PINA, D. dos S.; VALADARES FILHO, S. de C.; VALADARES, R.F.D; DETMANN, E.; CAMPOS, J.M. de S.; FONSECA, M.A.; TEIXEIRA, R.M.A.; OLIVEIRA, A.S. DE. Síntese de proteína microbiana concentrações de ureia em vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1551-1559, 2006.

RULQUIN, H.; VERITE, R.; GUINARD, J. et al. Dairy cows requirements for amino acids. Pages 143-160. In M. Ivan, ed., **Animal Science Research and Development: Moving Toward a New Century**, Centre for Food and Animal Research Contribution 2321, Ottawa, Ontario, Canada, 1995.

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

SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; VOLTOLINI, T.V. 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.289-335.

SANTOS, F.A.P.; PEDROSO, A.M. Metabolismo de proteínas, p. 265-292. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. de. **Nutrição de Ruminantes**, 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2011. 616p.

SANTOS, S. A.; CAMPOS, J. M. de S.; VALADARES FILHO, S. de C.; OLIVEIRA, A. S. de; SOUZA, S. M. de; SANTIAGO, A. M. F. Balanço de nitrogênio em fêmeas leiteiras em confinamento alimentadas com concentrado à base de farelo de soja ou farelo de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.1135-1140, 2010.

SAS INSTITUTE. **Language reference**. Version 6, Cary: 1990. 1042p.

SCHWAB, C.G., BOZAK, C.K., WHITEHOUSE, N.L. Rumen-protected amino acids for dairy cattle: progress towards determining lysine and methionine requirements. **Animal Feeding Science and Technology**, 59:87-101, 1996.

SCHWAB, C.G., SATTER, L.D., CLAY, A.B. Response of lactating cows to abomasal infusion of amino acids. **Journal of Dairy Science**, 59:1254-70, 1976.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 517p

SIDDONS, R.C., NOLAN, J.V., BEEVER, D.E et al. 1985. Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of N. **British Journal of Nutrition**, 54(1):175-187.

SILVA, R.M.N. da; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S. de C.; CECOM, P.R.; RENNO, L.N.; SILVA, J.M. da. Ureia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J. FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

SOARES, C. A.; CAMPOS, J. M. de S.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. de C.; MENDONÇA, S. de S.; QUEIROZ, A. C. de; LANA, R. de P.; VÉRAS, R. M. L.; SARAIVA, E. P. Produção de Proteína Microbiana e Parâmetros Ruminais em Vacas Leiteiras Alimentadas com Farelo de Trigo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.345-350, 2005.

SOUZA, A. L. de; GARCIA, R.; VALADARES, R. F. D.; PEREIRA, M. L. A.; CABRAL, L. da S.; VALADARES FILHO, S. de C. Casca de café em dietas para vacas em lactação: balanço de compostos nitrogenados e síntese de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1860-1865, 2006 (suplemento).

TIMMERMANS, S. J.; JOHNSON, L. M.; HARRISON, J. H.; DAVIDSON, D. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using milk uric acid or allantoin. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 10, p. 2387-2390, 2000.

VALADARES, R.F.D., GONÇALVES, L.C., RODRIGUEZ, N.M. VALADARES FILHO, S. de C.; SAMPAIO, I. B. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C.; CLAYTON, M.K. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 12, p. 2686-2696, 1999.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S.; AZEVÊDO, J. A. G.; VALADARES, R. F. D. Estimativa da produção de proteína microbiana utilizando a excreção de derivados de purinas na urina. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2007, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2007. p. 90-120.

VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV/DZO, 1995. p.1259-1263.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

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

VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A.; ØRSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.