

LUCIANA LOUZADA PRATES

**FRAÇÃO ENDÓGENA E RECUPERAÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE
PURINAS EM NOVILHAS NELORE E HOLANDESAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

P912f
2011

Prates, Luciana Louzada, 1983-

Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas em novilhas Nelore e Holandesas / Luciana Louzada Prates. – Viçosa, MG, 2011.
viii, 48f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Rilene Ferreira Diniz Valadares.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 34-38

1. Ruminante. 2. Urina. 3. Ácido ribonucleico.

I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 636.2

LUCIANA LOUZADA PRATES

**FRAÇÃO ENDÓGENA E RECUPERAÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS
DE PURINAS EM NOVILHAS NELORE E HOLANDESAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 18 de julho de 2011.

Prof. Sebastião de C. Valadares Filho
Co-orientador

Prof. Edenio Detmann
Co-orientador

Prof. Marcos Inácio Marcondes

Prof. Mário Fonseca Paulino

Profa. Rilene Ferreira Diniz Valadares
Orientadora

Conteúdo

RESUMO	iii
ABSTRACT.....	vi
INTRODUÇÃO.....	1
LITERATURA CITADA.....	8

Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas em novilhas

Nelore e Holandesas	13
RESUMO	13
INTRODUÇÃO.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
CONCLUSÕES.....	33
LITERATURA CITADA.....	34
APÊNDICE	39

RESUMO

PRATES, Luciana Louzada, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011. **Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas em novilhas Nelore e Holandesas.** Orientadora: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Co-orientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Edenio Detmann.

Objetivou-se quantificar a contribuição endógena para a excreção urinária de derivados de purinas (DP) e estabelecer a proporção de purinas no abomaso recuperadas na urina, bem como pesquisar possíveis diferenças entre as raças Nelore e Holandesa através da infusão abomasal de RNA (*Torula yeast*) como fonte de purinas. Utilizaram-se oito novilhas fistuladas no rúmen e no abomaso, sendo quatro Nelore (Ne) e quatro Holandesas (Hol), com pesos corporais (PC) de $270 \pm 7,76$ e $225 \pm 7,16$ kg, respectivamente, alimentadas com dieta a base de silagem de milho e concentrado na proporção de 60:40. Os animais foram distribuídos nos tratamentos segundo o delineamento em dois quadrados latinos (QL) 4 x 4, balanceados para efeito residual, sendo um QL para cada grupo genético. Os tratamentos experimentais foram constituídos de infusões no abomaso de RNA nas doses de 0; 33; 66 e 100 mmol/dia. Após sete dias de ajustamento ao nível de ingestão da dieta a 13 g MS/kg do PC, cada período experimental com duração de 14 dias decorreu da seguinte maneira: 1° ao 5° dia, adaptação; 6° ao 9° dia, coleta de digesta de abomaso e de fezes; 9° ao 13°, infusões de RNA no abomaso; 10° ao 13° dia, coleta total de urina e de fezes; 14° dia, coleta de digesta de rúmen para isolamento de bactérias. Do 1° ao 9° dia de cada período experimental, cada animal recebeu 15 g de óxido crômico (Cr_2O_3), como indicador externo, em única dose, sendo administrado via fístula ruminal sempre às 10h00, para se obter o fluxo de MS no abomaso. Para a coleta total de urina foram utilizadas sondas do tipo Folley n° 22, duas vias, com balão de 30 mL. O fluxo de bases purinas em cada período no abomaso foi obtido somando-se o valor de cada animal antes da infusão com a

respectiva quantidade infundida, enquanto o fluxo de MS abomasal foi obtido pela relação entre a quantidade do indicador externo oferecido e a sua concentração nas amostras de digesta. A quantidade de compostos nitrogenados microbianos no abomaso foi calculada através do fluxo de N-RNA presente no abomaso dividido pela relação N-RNA:N-total nas bactérias isoladas do rúmen. As perdas endógenas e a recuperação de bases purinas como derivados de purinas foram estimadas por regressão entre a excreção diária dos derivados de purinas na urina (Y) e as bases purinas no abomaso (X), expressas em mmol/kg^{0,75}, representadas, respectivamente, pelo intercepto e pelo coeficiente da regressão. As análises foram conduzidas utilizando-se o PROC MIXED do SAS pressupondo-se variâncias homogêneas entre tratamentos, sendo os graus de liberdade estimados pelo método de Kenward-Roger. Os procedimentos estatísticos foram conduzidos considerando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I. Os consumos médios de MS, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}), carboidratos não fibrosos (CNF) e de nutrientes digestíveis totais (NDT), expressos em kg/dia e, os de MS e FDN_{cp} expressos em g MS/kg PC foram 3,40; 3,26; 0,36; 0,08; 1,14; 1,70; 2,53 kg/dia; 13,72 e 4,63 g MS/kg PC, respectivamente. Os consumos não diferiram (P>0,05) para as quatro doses de infusão de RNA no abomaso e entre os grupos genéticos, quando expressos em relação ao PC. As digestibilidades aparentes totais de MS, MO, EE, FDN_{cp} e CNF e os teores NDT não foram influenciados (P>0,05) pelas doses de infusão e pelos grupos genéticos, sendo em média de 728,5; 744,9; 847,1; 601,0; 859,4 e 743,6 g/kg MS, respectivamente. As digestibilidades ruminais médias para MS, MO, PB, EE, FDN_{cp} e CNF foram de 624,0; 664,5; 211,1; 134,4; 903,0 e 629,6 g/kg MS, respectivamente, e não diferiram (P>0,05) entre as doses de infusão e os grupos genéticos. Relacionando a excreção de derivados de purinas na urina (\hat{Y}) e as

quantidades de bases purinas no abomaso (X), foram obtidas as seguintes regressões: $\hat{Y} = 0,389 + 0,926 X$, onde 0,389 representa a fração endógena dos derivados de purinas na urina e 0,926, a recuperação das bases purinas para novilhas Nelore; $\hat{Y} = 0,439 + 0,911 X$, sendo a fração endógena igual a 0,439 mmol/kg^{0,75} e a recuperação de bases purinas igual a 0,911 para novilhas Holandesas; $\hat{Y} = 0,405_{\pm 0,148} + 0,923_{\pm 0,077} \times X$; $s_{XY} = 0,219$, onde 0,405 mmol/kg^{0,75} representa a fração endógena e 0,92 representa as bases purinas recuperadas para os dois grupos genéticos em conjunto. Após ajuste dos modelos de regressão, observou-se que a equação conjunta pode ser utilizada tanto para novilhas Nelore quanto para Holandesas. A excreção urinária média de creatinina foi de 27,23 mg/kg PC, não sendo afetada ($P > 0,05$) pela infusão abomasal de RNA e pelos grupos genéticos. Conclui-se que não há diferenças entre novilhas Nelore e Holandesas para a fração endógena de DP, para a recuperação urinária de purinas e para a excreção de creatinina que são, em média, 0,405 mmol/kg^{0,75}, 0,92 e 27,23 mg/kg PC, respectivamente.

ABSTRACT

PRATES, Luciana Louzada, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011. **Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives in Nellore and Holstein heifers.** Adviser: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Co-advisors: Sebastião de Campos Valadares Filho and Edenio Detmann.

This work aimed to quantify the endogenous purine derivatives in urine and establish the proportion of purines raised in abomasum that were recovered in urine of Nellore and Holsteins heifers, using abomasal infusion of RNA (*Torula yeast*) as source of purine. Eight heifers fistulated in rumen and abomasum were used, being four Nelore (Ne) and four Holsteins (Hol), with body weight (BW) of $270 \pm 7,76$ and $225 \pm 7,16$ kg, respectively, fed corn silage and concentrate (60:40). The feed intake was adjusted in 13 g/kg BW. The heifers were allocated in two 4x4 Latin square design (LS), and each LS was composed by a genetic group and balanced for residual effect. The treatments consisted of increasing abomasum infusions (0, 33, 66, and 100 mmol/d). The experimental periods were constituted of 5 days to adaptation and 9 for sample collection. The sampling of the abomasal digesta and feces collection was made in days 6th to 9th, RNA infusion in days 9th to 13th, the total urine and feces collection in day 10th to 13th and sampling of rumen digesta for bacterial isolation in day 14th. From 1st to 9th day of each experimental period each animal received 15 g of chromic oxide (Cr_2O_3), as external marker, in a single dose, via ruminal cannula at 10h00, to obtain the DM flow in abomasum. A 2-way Foley catheter with a 30-mL balloon was used during the total urine collection. The purine bases flow in abomasum was obtained with the sum of the value of each animal before infusion with the respective amount infused. The abomasal flow of DM was obtained from the ratio between the amounts of the Cr_2O_3 administered and its concentration in the abomasal digesta sample. The amount of microbial nitrogen in the abomasum was calculated using the

abomasal N-RNA flow divided by the N-RNA:totalN ratio in the isolated bacteria at the rumen. The endogenous losses and the purine bases recovery as urinary PD were estimated by a linear regression between the daily urinary PD excretion (Y) and the purine bases in the abomasum (X), expressed in $\text{mmol/kg}^{0,75}$, respectively represented by the intercept and by the regression coefficient, respectively. The statistical analyses were performed using PROC MIXED (SAS) assuming homogeneous variances among treatments by Kenward-Roger. The statistical procedures were conducted considering 0,05 as critical level of probability from the type I error. The means of nutrient intake were 3,40 kg/d of DM; 3,26 kg/d of organic matter (OM); 0,36 kg/d of crude protein (CP); 0,08 kg/d of ether extract (EE); 1,14 kg/d of neutral detergent fiber corrected ash and protein (apNDF); 1,70 kg/d of nonfiber carbohydrates (NFC) and 2,53 kg/d of total digestible nutrients (TDN); 13,72 and 4,63 g DM/kg BW of DM and apNDF, respectively. Abomasal infusion of RNA and the genetic groups did not affect the feed intake, when expressed in g/kg of BW and the total apparent digestibility of DM, OM, EE, CP apNDF and NFC ($P>0,05$) with means of 728,5; 744,9; 847,1; 601,0; 859,4 and 743,6 g/kg DM, respectively. The ruminal digestibility means of DM, OM, CP, EE, NDFap and NFC were 624,0; 664,5; 211,1; 134,4; 903,0 and 629,6 g/kg DM, respectively, and not differ ($P>0,05$) between the levels of infusion and the genetic groups. In relation to the daily urinary PD excretion (Y) and the purine bases in the abomasum (X), the follow equations were obtained: $\hat{Y} = 0,389 + 0,926 X$, when 0,389 $\text{mmol/kg}^{0,75}$ represented the endogenous PD excretion and 0,926 was the urinary recovery of the purine bases in Nellore heifers; $\hat{Y} = 0,439 + 0,911 X$, when 0,439 $\text{mmol/kg}^{0,75}$ represented the endogenous PD excretion and 0,911 was the urinary recovery of the purine bases in Holsteins heifers; $\hat{Y} = 0,405_{\pm 0,148} + 0,923_{\pm 0,077} \times X$; $s_{XY} = 0,219$, when 0,405

mmol/kg^{0,75} represented the endogenous PD excretion and 0,923 was the urinary recovery of the purine bases in both genetic groups. After adjustment of regression models, we observed that the latter equation can be used both for Nellore and for Holstein heifers. The urinary excretion of creatinine was 27,23 mg/kg BW and was not affected ($P>0,05$) by abomasal infusion of RNA and by genetic groups. In conclusion, there is no difference between Nellore and Holstein heifers for endogenous fraction of PD, for urinary recovery of purine bases and for the urinary excretion of creatinine. The mean values were 0,405, mmol/kg^{0,75} 0,92 and 27,23 mg/kg BW, respectively.

INTRODUÇÃO

As exigências protéicas dos ruminantes são atendidas mediante a absorção intestinal de aminoácidos provenientes, principalmente, da proteína microbiana sintetizada no rúmen e da proteína dietética não-degradada no rúmen (Valadares Filho, 1995), sendo que a proteína microbiana pode suprir de 50 a 100% da proteína metabolizável em bovinos de corte (NRC, 1996).

Considerando-se que o objetivo na alimentação de ruminantes é maximizar a síntese de proteína microbiana, em virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos (Valadares Filho & Valadares, 2001), torna-se de fundamental importância o estudo de métodos que permitam estimar a produção de proteína microbiana de forma rápida e rotineira. O desenvolvimento desses métodos permitiria a produção de dietas balanceadas que mais se aproximam dos requerimentos de proteína do animal (Johnson et al., 1998).

A necessidade de desenvolvimento de técnicas não invasivas na experimentação animal favoreceu a utilização da excreção de derivados de purinas (DP) na urina para a quantificação da produção de proteína microbiana como alternativa às avaliações utilizando animais fistulados. O uso da excreção de DP como marcador metabólico da síntese microbiana foi primeiramente proposto por Blaxter e Martin (1962) e por Topps e Elliott (1965).

O princípio do método de excreção urinária de DP baseia-se no pressuposto de que todo ácido nucléico que deixa o rúmen é de origem essencialmente microbiana (Chen et al., 1990; Pimpa et al., 2001; Belenguer et al., 2002). Isso porque os alimentos ofertados aos ruminantes normalmente possuem baixo teor de ácido nucléico, que são

rapidamente degradados no rúmen como resultado da fermentação microbiana (Chen & Gomes, 1992).

Assim, a excreção de DP está diretamente relacionada com a absorção dessas purinas e conhecendo-se a relação N-purina:N-total da biomassa microbiana, o N microbiano pode ser calculado a partir da quantidade de purina absorvida, que é estimada pela excreção urinária de DP (Smith & McAllan, 1970; Chen & Gomes, 1992). Os ácidos nucleicos, no caso purinas, após serem absorvidos, são degradados em hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína e excretados como DP (Fujihara et al., 1987; Chen & Gomes, 1992; Orellana-Boero et al., 2001). Em bovinos, devido à alta atividade da xantina oxidase presente no sangue e nos tecidos, os derivados de purinas essencialmente excretados são alantoína e ácido úrico, uma vez que esta enzima converte xantina e hipoxantina a ácido úrico (Chen et al., 1990).

Entretanto, a relação quantitativa entre o fluxo duodenal e a excreção urinária dos metabólitos das purinas é viesada pela presença da fração endógena urinária (Orellana-Boero et al., 2001) e esta deve ser quantificada (Chen et al., 1990). A fração endógena compreende a pequena proporção de derivados de purina excretados na urina oriunda do processo contínuo que ocorre nos tecidos dos animais, no qual os nucleotídeos de purinas são quebrados e re-sintetizados a partir da síntese “de novo” de purinas ou da utilização de purinas pré-formadas (Chen & Gomes, 1992). Deve ser ressaltado que hipoxantina pode ser reutilizada para a síntese de nucleotídeos de purinas, mas quando a hipoxantina é oxidada pela xantina oxidase para produzir ácido úrico, esse último não pode ser reutilizado. Assim, a atividade da xantina oxidase nos tecidos afeta diretamente a produção endógena de derivados de purinas que é excretada (Chen & Ørskov, 2003). Dessa forma, estimando-se a

fração endógena e a recuperação urinária das purinas absorvidas, a produção de proteína microbiana pode ser estimada pela excreção de derivados de purina.

A excreção endógena, apesar de constituir importante parâmetro da excreção de DP (Chen & Ørskov, 2003; Gonzalez-Ronquillo et al., 2003), é de difícil quantificação em animais intactos (Fujihara et al., 1987), devido às limitações para eliminar a contribuição dos microrganismos ruminais sob condições fisiológicas em ruminantes (Chen et al., 1990). Entretanto, esse problema pode ser minimizado pelo uso de restrição nutricional (Giesecke et al., 1993). O uso da técnica de infusão intragástrica, sendo os animais alimentados com ácidos graxos voláteis (AGV) e caseína infundidos no rúmen e abomaso, respectivamente (Fujihara et al., 1987) ou o uso de animais mantidos em jejum (Pimpa et al., 2001) ou em manutenção (Orellana-Boero et al., 2001; Belenguer et al., 2002; Barbosa et al., 2011) possibilitam eliminar ou mitigar a contribuição da microbiota ruminal sobre a excreção de DP e assim, estimar a fração endógena (Chen et al., 1990).

Mura et al. (1986), comparando metabolismo de purinas em camelídeos (*Camelus dromedarius*) e zebuínos (*Bos indicus*) por intermédio da atividade da xantina oxidase presente no fígado desses animais, observaram que em bovinos praticamente toda hipoxantina foi oxidada à ácido úrico e, como os catabólitos dessa reação não podem ser reutilizados na síntese “de novo” de purinas (Chen & Gomes, 1992), seria esperado que a recuperação urinária das purinas infundidas fosse elevada.

Entretanto, observam-se diversos dados para esta recuperação, que muitas vezes são justificados pela presença de rotas não-renais, como a saliva e o leite (Chen & Gomes, 1992), pela diferença entre a digestibilidade de purinas microbianas e a de

purinas RNA- Yeast (Orellana-Boero et al., 2001). Contudo são fatores que devem ser melhor elucidados (Prasitkusol et al., 2002).

Em relação a bovinos *Bos taurus*, Orellana-Boero et al. (2001) obtiveram a regressão linear entre a excreção de DP (Y) e fluxo abomasal de purinas (X): $\hat{Y}=236 + 0,842X$, $\mu\text{mol/kg of PV}^{0,75}$, em vacas holandesas secas, usando a técnica de diluição de isótopo, N^{15} . Usando a mesma técnica, Gonzalez-Ronquillo et al. (2003) estimaram a fração endógena de $512 \mu\text{mol/kg of PV}^{0,75}$ em vacas holandesas lactantes e uma recuperação urinária de 0,61 e 0,77 mmol/d para vacas em início e em final de lactação, respectivamente. Vagnoni et al. (1997), utilizando infusão de bases purinas no abomaso de vacas lactantes e secas, alimentadas a 90% do consumo voluntário, obtiveram a regressão entre a excreção de DP (\hat{Y}) e fluxo abomasal de purinas (X): $\hat{Y} = 103 + 0,856X$. Estes autores consideraram que 86% das purinas que atingiram o omaso foram excretados como derivados de purinas.

Verbic et al. (1990) relataram recuperação de 0,77 de purinas infundidas em novilhos Friesian (*Bos taurus*) alimentados com infusão de ácidos graxos voláteis no rúmen e de caseína no abomaso, e propuseram um ajuste para a digestibilidade verdadeira dos ácidos nucléicos de $0,913 \pm 0,026$ para calcular a recuperação das bases purinas absorvidas. Com esta correção, a recuperação foi de 0,85. Os autores consideraram que a recuperação foi baixa e propuseram a presença de rotas não-renais para a recuperação destes derivados de purinas. Entretanto, estas vias não foram determinadas.

Em cruzamentos de *Bos indicus* X *Bos taurus*, Ojeda et al. (2005) encontraram fração endógena de $277,3 \mu\text{mol/kg}^{0,75}$, porém os animais foram submetidos a jejum durante

cinco dias, método criticado devido ao fato de que o jejum prolongado pode alterar as atividades metabólicas do animal e, portanto, a taxa de degradação de ácidos nucleicos (Chen & Ørskov, 2003). Em relação à recuperação urinária, Ojeda et al. (2005) obtiveram o valor de 82,3 ($\pm 6,69$) mmol/d, entretanto, os autores consideraram um erro potencial nesta estimativa de recuperação, uma vez que assumiram uma disponibilidade linear do marcador utilizado.

Pimpa et al. (2001), infundindo quatro doses de bases purinas no duodeno (10; 15; 30 e 45 mmol/dia) em bovinos Kedah-Kelantan (*Bos indicus*) alimentados em manutenção, obtiveram 85% de recuperação urinária das bases infundidas e 0,147 mmol/kg^{0,75} como excreção endógena. Por outro lado, Osuji et al. (1996) relataram a excreção endógena de DP de 0,17 mmol/kg^{0,75} em *Bos indicus* mantidos em jejum.

Barbosa et al. (2011) descreveram que a excreção diária de derivados de purinas, mmol/kg^{0,75}, em função do fluxo de RNA no abomaso, mmol/kg^{0,75}, em novilhas Nelore se ajustou à regressão $\hat{Y} = 0,741X + 0,301$, em que 0,741 representa a recuperação das purinas infundidas como derivados na urina e o valor de 0,301 mmol/kg^{0,75} representa a fração endógena. Por outro lado, Chen & Gomes (1992) indicaram como fração endógena o valor de 0,385 mmol/kg^{0,75}, baseado na recomendação de Verbic et al. (1990), que utilizaram dois novilhos holandeses com alimentação intragástrica.

Pode-se verificar que a excreção endógena descrita na literatura varia de 146,34 a 531 $\mu\text{mol/kg}^{0,75}$ o que pode ser atribuído aos diferentes métodos adotados e às possíveis diferenças entre *Bos taurus* e *Bos indicus*.

A utilização de regressão para estimar a fração endógena de DP parece promissora, uma vez que evita os efeitos adversos do jejum e da alimentação intragástrica. Provavelmente, a técnica de infusão de purinas no abomaso é mais efetiva para criar a faixa de variação de fluxo de RNA necessária para se estimar a fração endógena (Barbosa et al., 2011).

Considerando que a fração endógena é subtraída da excreção total de purinas para quantificar a produção de proteína microbiana e que a recuperação das purinas absorvidas na urina compõem os parâmetros dos modelos de estimação, observa-se que valores inadequados podem resultar em produção microbiana sub ou superestimada.

Com relação ao grupo genético, têm sido registradas diferenças na excreção urinária de DP entre *Bos taurus* e *Bos indicus*. Segundo Chen & Ørskov (2003), para animais zebuínos devem ser considerados valores de DP endógeno inferiores (0,147 mmol/kg^{0,75}) aos 0,385 mmol/kg^{0,75} sugeridos por estes autores para animais taurinos. Pimpa et al. (2001) afirmaram que a excreção de DP na urina é similar entre zebuínos e europeus. Entretanto, nos experimentos citados não se avaliaram os dois grupos genéticos simultaneamente.

Considerando-se que a maior parte do rebanho brasileiro é criada a pasto, a simplificação da coleta total de urina tornaria a determinação de DP uma prática rotineira (Valadares et al., 1997). Essa simplificação poderia ser realizada pelo uso de uma amostra isolada denominada amostra *spot*, que se baseia na relativa constância da excreção urinária de creatinina (Pereira, 2009).

A creatinina é formada, no músculo, pela remoção irreversível e não-enzimática de água da creatina-fosfato, originada do metabolismo do tecido muscular (Harper et al., 1982). Dessa maneira, segundo BR CORTE (Pina et al., 2010), a produção diária de creatina e, conseqüentemente, a excreção de creatinina é dependente da massa muscular e, portanto, proporcional ao peso do animal.

O importante papel desempenhado pela creatinina para a utilização da coleta *spot* de urina torna imprescindível o estudo de fatores que possam interferir em sua excreção. Rennó et al. (2000), trabalhando com novilhos F1 Europeu X Zebu, encontraram que a excreção urinária de creatinina não foi afetada pelo nível de ingestão de proteína bruta, obtendo valor médio de 27,36 mg/kg PC. Leal et al. (2007), utilizando novilhas Nelore, obtiveram um valor médio para a excreção urinária de creatinina de 30 mg/kg PC e observaram ausência de efeito da duração do período de coleta sobre essa excreção. Pereira (2009) constatou que o peso corporal é o principal determinante para estimar a excreção de creatinina, cujo valor médio foi de 26,35 mg/kg PC em novilhas Nelore.

Dessa forma, o presente trabalho foi conduzido, utilizando-se novilhas das raças Nelore e Holandesa alimentadas com dieta única ofertada ao nível de 13 g/kg de PC, recebendo infusão abomasal de RNA (*Torula Yeast*) como fonte de purinas, com os objetivos de quantificar a contribuição endógena para a excreção urinária dos derivados de purina; estabelecer a proporção de purinas infundidas no abomaso recuperadas na urina e avaliar o efeito dos grupos genéticos sobre a excreção diária de creatinina.

LITERATURA CITADA

- BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S.; DETMANN, E.; LEÃO, M.I. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p.510–519, 2011.
- BELENGUER, A.; YAÑEZ, D.; BALCELLS, J.; OZDEMIR BABER, N.H.; GONZALEZ RONQUILLO, M. Urinary excretion of purine derivatives and prediction of rumen microbial outflow in goats. **Livestock Production Science**, v.77, p.127–135, 2002.
- BLAXTER, K.L.; MARTIN, A.K. The utilization of protein as a source of energy in fattening sheep. **British Journal of Nutrition**, v.16, p.397–407, 1962.
- CHEN, X.B.; ØRSKOV, E.R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. **International Feed Resources Unit**, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdom. 2003.
- CHEN, X.B.; ØRSKOV, E.R.; HOVEL. F.D.D. Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**, v.63, p.121–129, 1990.
- 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.

- International Feed Research Unit.** Rowett Research Institute, Aberdeen, UK. (Occasional publication). p.21, 1992.
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J.; KYLE, D.J. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, p.7–12, 1987.
- GIESECKE, D.; BALSLEMKER, J; SÜDEKUM, K.H.; STANGASSINGER, M. Plasma level, clearance and renal excretion of endogenous and ruminal purines in the bovine. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.70, p.180-189, 1993.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1282–1291, 2003.
- HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de química fisiológica.** 5.ed. São Paulo: Atheneu. p.736, 1982.
- JOHNSON, L.M.; HARRISON, J.H.; RILEY, R.E. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2408–2420, 1998.
- LEAL, T.L.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; CAMPOS, J.M.S.; DETMANN, E.; BARBOSA, A.M.; TEIXEIRA, R.M.A.; MARCONDES, M.I. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.905–911, 2007.

MURA, U.; OSMAN, A.M.; MOHAMED, A.S.; IPATA, P.L. Studies on urine turnover in the Camel (*Camelus dromedarius*) and Zebu (*Bos indicus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.84B, p.589–593, 1986.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C: National Academic Press, p.242, 1996.

OJEDA, A.; PARRA, O.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A. Urinary excretion of purine in *Bos indicus* x *Bos Taurus* crossbred cattle. **British Journal of Nutrition**, v.93, p.821–828, 2005.

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

OSUJI, P.O.; NSAHLAI, I.V.; KHALILI, H. Effect of fasting on the urinary excretion of nitrogen and purine derivatives by zebu (*Bos indicus*) and crossbred (*Bos indicus* x *Bos taurus*) cattle. **Journal of Applied Animal Research**, v.10, p.39–47, 1996.

PEREIRA, V.S.A. **Influência do Peso Corporal e das Características de Carcaça sobre a Excreção de Creatinina e Utilização de Coleta Spot de Urina para Estimar a Excreção de Derivados de Purinas e de Compostos Nitrogenados em Novilhas Nelore**. 2009. 51f. Dissertação (Mestrado em Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

- PIMPA, O.; LIANG, J.B.; JELAN, Z.A.; ABDULLAH, N. Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah-Kelantan cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p.203–214, 2001.
- PINA, D.S; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L. Ruminal feed protein degradation and microbial protein synthesis. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, P.V.R. (Edit). **Br Corte. Nutrient Requeriments of Zebu Beef Cattle**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, cap.2, p.13-44,2010.
- PRASITKUSOL, P.; ØRSKOV, E.R.; CHEN, X.B. Variation between sheep in renal excretion of [¹⁴C]allantoin. **British Journal of Nutrition**, v.87, p.561–568, 2002.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I.; COELHO DA SILVA, J.F.; CECON, P.R.; GONÇALVES, L.C; DIAS, H.L.C.; LINHARES R.S. Concentração Plasmática de Uréia e Excreções de Uréia e Creatinina em Novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1235–1243, 2000.
- SMITH, R.H.; McALLAN, A.B. Nucleic acid metabolism in ruminants. 2. Formation of microbial nucleic acids in the rumen in relation to the digestion of food nitrogen and the fate of dietary nucleic acids. **British Journal of Nutrition**, v.24, p.545–556, 1970.
- TOPPS, J.H.; ELLIOTT, R.C. Relationship between concentrations of ruminal nucleic acid and excretion of purine derivates by sheep. **Nature**, v.205, p.498–499,1965.

VAGNONI, D.B.; BRODERICK, G.A; CLAYTON, M.K.; HATFIELD, R.D. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1695–1702, 1997.

VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, N.M.; VALADARES FILHO, S.C; COELHO DA SILVA, J.F. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 2. Consumo, digestibilidades e balanços de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.1259–1263, 1997.

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. Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV/DZO, p.355–388, 1995.

VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES. R. F. D. Recentes avanços em proteína na nutrição de vacas leiteiras. In: II SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GADO DE LEITE. Lavras. **Anais...** Lavras; UFLA, p. 229–248, 2001.

VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MacLEOD, N.A. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivatives excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, p.243–248, 1990.

Fração endógena e recuperação urinária de derivados de purinas em novilhas

Nelore e Holandesas

Resumo: Objetivou-se estimar a fração endógena de derivados de purina (DP), assim como a recuperação urinária de purinas em novilhas Nelore e Holandesas, utilizando infusão abomasal de RNA. Avaliou-se também a excreção diária de creatinina, os consumos e digestibilidades aparentes totais e ruminais de matéria seca (MS) e dos nutrientes. Utilizaram-se quatro novilhas Nelore e quatro Holandesas, com peso corporal médio (PC) de $270 \pm 7,76$ e $225 \pm 7,16$ kg, respectivamente, fistuladas no rúmen e no abomaso. Cada grupo genético foi distribuído em um quadrado latino 4X4, balanceado para efeito residual. Os tratamentos experimentais constituíram-se de quatro doses de infusão de RNA (*Torula Yeast*): 0; 33; 66; 100 mmol/dia, e a dieta, à base de silagem de milho e concentrado, foi fornecida a 13g MS/kg PC. As perdas endógenas de DP e a recuperação de bases purinas foram estimadas por regressão. Os consumos médios (kg/dia) não diferiram ($P > 0,05$) para as doses de infusão e foram de 3,40; 3,26; 0,36; 0,08; 1,14; 1,70; 2,53 kg/dia; 13,72 e 4,63 g MS/kg PC para MS, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}), carboidratos não fibrosos (CNF), nutrientes digestíveis totais (NDT), MS e FDN_{CP} em relação ao PC (FDN_{cpPC}), respectivamente. As digestibilidades aparentes totais de MS, MO, PB, EE, FDN_{cp} e CNF e os teores NDT não diferiram ($P > 0,05$) para as doses de infusão e para os grupos genéticos, sendo em média 728,5; 744,9; 644,3; 847,1; 601,0; 859,4 e 743,6 g/kg MS, respectivamente. As digestibilidades ruminais de MS, MO, PB, EE, FDN_{cp} e CNF não apresentaram efeito ($P > 0,05$) das doses de infusão e de grupos genéticos, sendo em média 624,0; 668,5; 211,1; 134,4; 903,0; 629,6 g/kg MS,

respectivamente. A relação entre excreção de DP e fluxo abomasal de RNA, expressos em $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$, resultou nas regressões para Nelore, Holandesas e conjunta, respectivamente: $\hat{Y} = 0,389 + 0,926X$; $\hat{Y} = 0,439 + 0,911X$; $\hat{Y} = 0,405 + 0,923X$, sendo 0,389; 0,439; 0,405 $\text{mmol/kg}^{0,75}$ a fração endógena de DP e 0,926; 0,911; 0,923 a recuperação de purinas. Não houve efeito ($P > 0,05$) da infusão e dos grupos genéticos sobre excreção diária de creatinina, que foi em média 27,23 mg/kg PC. Conclui-se que não há diferenças entre novilhas Nelore e Holandesas para a fração endógena de DP, para a recuperação urinária de purinas e para a excreção de creatinina que são, em média, 0,405 $\text{mmol/kg}^{0,75}$, 0,92 e 27,23 mg/kg PC, respectivamente.

Palavras – chave: ruminantes, RNA, urina.

INTRODUÇÃO

Em muitos estudos têm sido sugerido que a excreção de derivados de purina (DP) pelos ruminantes poderia ser utilizada com índice de produção de biomassa microbiana no rúmen (Topps & Elliott, 1965; Orellana-Boero et al., 2001). Nesse método, admite-se que todo o ácido nucléico presente no intestino delgado é de origem microbiana (Chen & Gomes, 1992). Após absorção, os ácidos nucléicos são degradados em xantina, hipoxantina, ácido úrico e alantoína, que compreendem os DP excretados na urina de ruminantes (Chen et al., 1990).

A excreção urinária de DP pode constituir técnica não invasiva para quantificação da produção de proteína microbiana; entretanto a relação entre o fluxo de RNA para o duodeno e a presença dos DP na urina pode ser viesada pela fração endógena e pela recuperação urinária incompleta das purinas infundidas (Verbic et al., 1990; Gonzalez-Ronquillo et al., 2003).

Por outro lado, apesar de Pimpa et al. (2001) afirmarem que a excreção de DP na urina é similar entre zebuínos e europeus, Chen & Ørskov (2003) sugeriram que há diferenças entre grupos genéticos. Entretanto, faltam estudos onde os dois grupos genéticos estejam no mesmo estágio fisiológico e sejam submetidos às mesmas condições de manejo e de técnica.

Dessa forma, o presente trabalho foi conduzido para estimar a fração endógena e a recuperação urinária de purinas em novilhas Nelore e Holandesa. Avaliou-se concomitantemente, o efeito de grupo genético sobre a excreção urinária de creatinina, o consumo voluntário e os coeficientes de digestibilidades totais e ruminais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, sendo que todos os procedimentos utilizados foram aprovados pela Comissão de Ética para Uso de Animais da UFV, segundo o processo 42/2010.

Foram utilizadas oito novilhas, sendo quatro *Bos indicus* (Nelore) e quatro *Bos taurus* (Holandês), com peso corporal (PC) inicial de $270 \pm 7,76$ e $225 \pm 7,16$ kg, respectivamente, fistuladas no rúmen e no abomaso (Leão & Coelho da Silva, 1980). Os animais foram alojados em baias individuais, cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, com área de 9 m^2 e dotadas de comedouros de alvenaria e bebedouros individuais.

A dieta foi formulada com base em silagem de milho e concentrado na proporção 60:40 na base da matéria seca (MS), respectivamente, sendo fornecida na quantidade de 13 g MS/kg de PC (Tabela 1) em duas porções de peso similar às 8h00 e às 16h00. A dieta foi balanceada para conter aproximadamente 12% de proteína bruta (PB) com base na MS, quantidade de PB suficiente para atender as exigências de manutenção, conforme BR CORTE (Valadares Filho et al., 2010).

Os tratamentos experimentais foram constituídos de infusões no abomaso de RNA (*Torula yeast*, type VI, Sigma[®]) nas quantidades de 0; 33; 66 e 100 mmol/dia. Todos os animais receberam a mesma dieta, cujo fornecimento iniciou-se sete dias antes do primeiro

período experimental com finalidade de adaptação. O experimento foi conduzido segundo delineamento em quadrados latinos 4 x 4, balanceado para efeito residual, com oito animais, quatro tratamentos, quatro períodos experimentais e dois quadrados, sendo um para cada raça.

Tabela 1 – Composição química da silagem, do concentrado e da dieta.

Item ¹	Silagem	Concentrado ²	Dieta
MS ³	299,9	872,8	529,0
MO ⁴	957,2	964,6	960,1
PB ⁴	58,3	180,8	107,3
EE ⁴	26,2	19,1	23,3
FDN _{cp} ⁴	477,2	11,7	333,2
CNF ⁴	395,5	668,7	504,8

¹ MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN_{cp}: fibra solúvel em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos

² Proporção dos ingredientes no concentrado (g/kg MN): Fubá de milho, 762,8; Farelo de soja, 179,8; Uréia/SA, 12,4; M. mineral, 27,5.

³ g/kg matéria natural

⁴ g/kg MS na dieta.

Os quatro períodos experimentais com 14 dias cada um, seguiram o seguinte esquema: do 1º ao 5º dia, adaptação; do 6º ao 9º foram coletadas amostras de digesta de abomaso e de fezes em horários pontuais; do 9º ao 13º dia, infusão de RNA no abomaso; do 10º ao 13º dia foram realizadas coleta total de urina e de fezes; no 14º dia, digesta de rúmen foi coletada.

Do 1º ao 9º dia de cada período experimental, cada animal recebeu 15 g de óxido crômico (Cr₂O₃), como indicador externo, em única dose, sendo administrado via fístula ruminal sempre às 10h00, para obter-se o fluxo de matéria seca no abomaso.

Diariamente, do 5º ao 9º dia, foram quantificados e amostrados a silagem e o concentrado fornecidos. Ao final de cada período, foram efetuadas amostras compostas do alimento, que foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a -20°C para análises posteriores.

As coletas de amostras de digesta de abomaso e de fezes foram realizadas a intervalos de 15 horas (Allen & Linton, 2007), iniciando-se às 7h00 do 6º dia até as 10h00 do 9º dia. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e pré-secas em estufa de ventilação forçada a 60°C, por 72 a 96 horas, e moídas em moinho com peneira de 1 mm, quando foi elaborada uma amostra composta para cada animal no período, com base no peso seco ao ar.

Soluções de RNA, como fonte de base purinas (BP), foram infundidas no abomaso nas quantidades de 0; 33; 66 e 100 mmol/dia. Essas quantidades foram divididas em seis doses iguais fornecidas a intervalos de quatro horas, iniciando-se às 12h00 do 9º dia experimental e finalizando-se às 8h00 do 13º dia. Para as infusões, as tampas das cânulas abomasais foram substituídas por outras adaptadas com tubos de polietileno, de aproximadamente 15 cm de comprimento para o interior do abomaso. A extremidade externa do tubo de polietileno, a cada infusão, foi conectada a uma seringa controlada manualmente. Para garantir que a quantidade prevista de RNA atingisse o abomaso e para remover resíduos da solução de RNA no tubo de polietileno, 50 mL de solução fisiológica foram injetados ao final de cada infusão.

As soluções de RNA (2,07 mmol de bases purinas/g) foram preparadas no dia anterior à infusão, pela diluição em água alcalinizada com NaOH (pH=11) a 40°C

(Orellana-Boero et al., 2001). Após a diluição, o pH foi ajustado para 8,0 com HCl concentrado (Pimpa et al., 2001).

O fluxo de MS abomasal foi obtido pela relação entre a quantidade de óxido crômico oferecido e a concentração do mesmo nas amostras de digesta e o fluxo de bases purinas no abomaso foi obtido somando-se o valor de cada animal antes da infusão com a respectiva quantidade infundida.

Para a coleta total de urina de cada animal foram utilizadas sondas do tipo Folley nº 22, duas vias, com balão de 30 mL. Na extremidade livre da sonda foi adaptada mangueira de polietileno, pela qual a urina foi conduzida até recipientes de plástico com tampa, inseridos em caixas de isopor 80 L preenchidas com gelo, com o intuito de preservar os derivados de purina e a creatinina (Van Niekerk et al., 1963). Ao término de cada período de 24 horas de coleta, a urina foi pesada e homogeneizada. Em seguida, foram obtidas amostras de 10 mL que foram diluídas em 40 mL de H₂SO₄ 0,036N e de 50 mL sem diluição, que foram armazenadas a -20°C até as análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) e creatinina, respectivamente.

Durante a coleta total de fezes, foram utilizados recipientes coletores com tampa para cada animal com o intuito de alocar as fezes coletadas diretamente do piso após imediata defecação. Ao término de cada período de 24 horas de coleta, as fezes foram pesadas e homogeneizadas. Em seguida, uma alíquota foi retirada, pesada e pré-seca em estufa de ventilação forçada a 60°C, por 72 a 96 horas, e moída em moinho com peneira de 1 mm, quando foi elaborada uma amostra composta para cada animal no período, com base no peso seco ao ar.

Às 8h00 do 14º dia foram efetuadas as coletas de digesta ruminal para o isolamento de bactérias. Para isso, aproximadamente quatro litros de digesta de rúmen de cada animal foram coletados via fístula ruminal e as bactérias isoladas conforme técnica descrita por Cecava et al. (1990). Para medir a produção de biomassa microbiana que chega ao abomaso foram utilizadas as bases purinas avaliadas conforme descrito por Ushida et al. (1985). A quantidade de compostos nitrogenados microbianos que chegou ao abomaso foi calculada através do fluxo de N-RNA presente no abomaso dividido pela relação N-RNA:N-total nas bactérias isoladas do rúmen.

As perdas endógenas e a recuperação de bases purinas como derivados de purinas foram estimadas por regressão entre a excreção diária dos derivados de purinas na urina (\hat{Y}) e as quantidades de bases purinas no abomaso (X), expressas em mmol/kg^{0,75}, representadas, respectivamente, pelo intercepto e pelo coeficiente da regressão.

As amostras compostas dos alimentos fornecidos, sobras e fezes foram submetidas às análises laboratoriais para quantificação dos teores de MS, proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), conforme técnicas descritas por Silva & Queiroz (2002). A análise de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}) foi determinada pela técnica adaptada de Mertens (2003) e analisada com a adição da enzima alfa-amilase termo estável (Ankon Tech. Corp., Fairport, NY). Os carboidratos não fibrosos corrigidos para cinzas e proteína (CNF_{cp}), foram calculados como proposto por Detmann e Valadares Filho (2010), sendo: CNF_{cp} = 100 - [(% PB - % PB derivada da uréia + % uréia) + % FDN_{cp} + % EE + % cinzas]. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados segundo Weiss (1999) pela seguinte equação: NDT (%) = PBd + FDNd + CNFd + 2,25 EEd. Em que: PBd = proteína bruta digestível; FDNd = fibra em detergente neutro

digestível; CNFd = carboidratos não-fibrosos digestíveis; EEd = extrato etéreo digestível. A análise de cromo nas amostras de digesta de abomaso e de fezes foi realizada de acordo com técnica proposta por Williams et al. (1962).

As análises de alantoína na urina foram realizadas a partir do método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987). Para quantificação das concentrações de ácido úrico foi utilizado o teste enzimático-colorimétrico com fator clareante de lípedes (LCF) (Barham & Trinder, 1972; Fossati et al, 1980) e a análise de creatinina foi realizada através do método picrato alcalino (Henry, 1974) em AutoAnalyzer II (InVitro Diagnóstica Ltda, Itabira, MG, BR).

As variáveis dependentes foram avaliadas segundo delineamento em quadrado latino 4 x 4 com agrupamento de dois quadrados, os quais foram organizados considerando-se grupos genéticos diferentes em cada um, utilizando-se o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + N_j + GN_{ij} + A_{(i)k} + P_{(i)l} + \varepsilon_{ijkl}$$

em que: Y_{ijkl} = variável dependente mensurada no animal k do grupo genético i submetido ao nível de infusão de RNA j durante o período l; μ = constante geral; G_i = efeito do grupo genético i confundido com o efeito de quadrado latino i (efeito fixo); N_j = efeito do nível de infusão abomasal de RNAj (efeito fixo); GN_{ij} = efeito de interação do grupo genético i e nível de infusão j (efeito fixo); $A_{(i)k}$ = efeito do animal k aninhado ao grupo genético i (efeito aleatório); $P_{(i)l}$ = efeito do período l aninhado ao quadrado latino i (efeito aleatório); e ε_{ijkl} = erro aleatório não observável pressuposto NID (0; σ^2_ε).

As comparações entre níveis de infusão de RNA foram realizadas por intermédio da decomposição ortogonal da soma de quadrados associada a esta fonte de variação em efeitos de ordem linear, quadrática e cúbica. As análises foram conduzidas, utilizando-se o PROC MIXED do SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.1) pressupondo-se variâncias homogêneas entre tratamentos, sendo os graus de liberdade estimados pelo método de Kenward-Roger.

As comparações entre diferentes variáveis em função dos grupos genéticos foram realizadas por intermédio do modelo básico:

$$Y_{ijkl} = \beta_0 + \beta_1 \times D + \beta_2 \times X_{ijkl} + \beta_3 \times D \times X_{ijkl} + A_{(i)k} + P_{(i)l} + \varepsilon_{ijkl}$$

em que: Y_{ijkl} e X_{ijkl} = variáveis consideradas na avaliação da relação; D = variável *dummy* referente à avaliação do efeito de grupo genético sobre a relação, sendo $D = 0$ para novilhas Nelore e $D = 1$ para novilhas Holandesas; $A_{(i)k}$ e $P_{(i)l}$ = efeitos aleatórios previamente descritos no modelo anterior utilizados para o ajustamento da variação experimental; e ε_{ijkl} = erro aleatório não observável pressuposto NID $(0; \sigma^2_\varepsilon)$

Os modelos de regressão foram ajustados segundo a significância dos parâmetros β_1 , β_2 e β_3 utilizando-se o método da máxima verossimilhança restrita implementado no PROC MIXED do SAS.

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos considerando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação ($P>0,05$) entre grupo genético e doses de infusão para os consumos médios diários, expressos em kg ou em relação ao peso corporal (PC), nem para as digestibilidades aparentes total e ruminal. As doses de infusão não afetaram ($P>0,05$) os consumos de MS, MO, PB, EE, FDN_{CP} , CNF e sobre o teor de NDT (Tabela 2).

Houve diferença significativa entre os grupos genéticos ($P<0,05$) para os consumos de MS, MO, PB, FDN_{cp} e CNF, expressos em kg/dia, sendo em média de 3,71; 3,56; 0,39; 1,25 e 1,85 para novilhas Nelore e de 3,09; 2,97; 0,33; 1,04 e 1,54 para novilhas Holandesas, respectivamente (Tabela 2). Deve-se ressaltar que essa diferença para os consumos foi decorrente da diferença média de peso corporal (PC) entre os grupos genéticos, sendo que o PC médio para novilhas Nelore e Holandesas foi de $225\pm 7,16$ e $270\pm 7,76$ kg, respectivamente. Quando os consumos de MS e FDN_{cp} foram expressos em função do peso corporal não foi observado efeito ($P>0,05$) dos grupos genéticos e das doses de infusão, sendo em média 13,72 e 4,63 g MS/kg PC, respectivamente (Tabela 2).

Ressalta-se que o nível de consumo foi planejado e, conforme Orellana-Boero et al. (2001) e Barbosa et al. (2011) sugeriram, a alimentação dos animais no nível de manutenção é o procedimento que melhor se aproxima das condições normais de alimentação sem gerar alterações metabólicas no animal, sobretudo sobre a taxa de degradação dos ácidos nucléicos (Chen & Ørskov, 2003).

Não houve efeito ($P>0,05$) das doses de infusão e dos grupos genéticos sobre as digestibilidades aparentes totais de MS, MO, EE, FDNcp e CNF e os teores NDT, que foram em média 728,1; 744,9; 847,1; 601,0; 859,4 e 743,6 g/kg MS, respectivamente (Tabela 2). A digestibilidade aparente total da PB não foi afetada pelo grupo genético ($P>0,05$), mas apresentou efeito linear significativo ($P<0,05$) do nível de infusão.

Não houve efeito ($P>0,05$) das doses de infusão e dos grupos genéticos sobre as digestibilidades ruminais da MS, MO, PB, EE, FDNcp e CNF que foram em média 624,0; 668,5; 211,1; 134,4; 903,0 e 629,6 g/kg MS, respectivamente (Tabela 2).

A digestibilidade está relacionada ao consumo e ao tipo de dieta (Van Soest, 1994) e, como os animais foram submetidos à dieta única e em nível de manutenção, as variações na digestibilidade não seriam esperadas. Dessa maneira, a ausência de efeito sobre os consumos de MS_{PC} e demais nutrientes pode ter resultado nas digestibilidades aparentes totais e ruminais semelhantes ($P>0,05$). Apesar de Orellana-Boero et al. (2001) terem observado efeito da infusão de bases purinas sobre a digestibilidade aparente total da proteína bruta, outros experimentos (Pimpa et al., 2001; Ojeda et al., 2005) não relataram esse efeito.

Tabela 2 – Médias estimadas, erro padrão da média e contrastes para consumos (kg/dia), digestibilidades (g/kg MS) aparente total e ruminal nos diferentes grupos genéticos e nos quatro níveis de infusão de RNA no abomaso.

Item ¹	Grupos Genéticos								EPM ¹	P – valor*		
	Nelore				Holandês					GG ¹	Contrastes	
	Níveis de Infusão (mmol/dia)										L ¹	Q ¹
	0	33	66	100	0	33	66	100				
Consumos (kg/dia)												
MS	3,72	3,69	3,70	3,74	3,08	3,10	3,09	3,09	0,18	0,046	0,486	0,545
MO	3,57	3,54	3,55	3,59	2,96	2,98	2,97	2,98	0,17	0,046	0,460	0,479
PB	0,39	0,39	0,39	0,40	0,33	0,33	0,33	0,33	0,02	0,046	0,531	0,356
EE	0,085	0,090	0,087	0,073	0,073	0,073	0,073	0,073	0,006	0,084	0,147	0,168
FDN _{cp}	1,25	1,24	1,24	1,25	1,03	1,04	1,04	1,04	0,06	0,049	0,526	0,479
CNF	1,85	1,84	1,84	1,87	1,53	1,55	1,54	1,54	0,08	0,046	0,387	0,516
NDT	2,82	2,74	2,64	2,82	2,33	2,34	2,31	2,26	0,16	0,093	0,211	0,142
Consumos (g MS/kg PC)												
MS _{PC}	13,7	13,7	13,7	13,8	13,7	13,7	13,7	13,8	0,03	0,981	0,139	0,098
FDN _{cpPC}	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	0,16	0,998	0,397	0,525
Digestibilidade Aparente Total (g/kg MS)												
MS	742,9	726,3	697,1	736,3	743,6	740,8	733,2	707,9	1,82	0,796	0,052	742,9
MO	755,1	743,9	713,6	752,1	759,7	757,8	749,7	727,6	1,78	0,724	0,083	755,1
PB	672,0	666,1	617,9	655,4	657,4	648,8	630,0	607,0	2,35	0,559	0,016	672,0
EE	853,8	833,5	839,8	835,2	855,0	857,8	876,3	825,7	1,32	0,379	0,097	853,8
FDN _{cp}	613,6	599,1	584,6	611,3	613,7	615,8	582,4	587,7	1,70	0,900	0,161	613,6
CNF	865,1	855,3	816,6	864,9	876,7	873,6	878,8	844,5	2,24	0,429	0,325	865,1
NDT	753,6	742,2	713,2	750,1	757,9	756,2	749,2	726,3	1,75	0,721	0,078	753,6
Digestibilidade Ruminal (g/kg MS)												
MS ²	603,2	479,2	650,0	572,3	686,7	653,7	647,8	699,1	7,10	0,251	0,758	603,2
MO ²	651,0	534,2	690,0	627,2	724,2	693,3	685,2	742,5	6,59	0,269	0,688	651,0
PB ³	202,4	114,0	229,5	238,5	286,1	196,8	210,1	211,5	7,12	0,718	0,967	202,4
EE ³	215,9	-26,1	80,3	130,0	149,7	155,8	154,0	215,2	10,32	0,596	0,917	215,9
FDN _{cp} ²	918,6	837,2	951,8	884,6	913,7	901,4	901,4	909,6	3,82	0,809	0,979	918,6
CNF ²	590,4	471,8	624,6	566,5	706,4	661,9	665,3	750,1	8,91	0,236	0,596	590,4

¹ MS: matéria seca; MS_{PC}: MS em função do peso corporal; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN_{cp}: fibra solúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDN_{cpPC}: FDN_{cp} em função do peso corporal; CNF: carboidratos não-fibrosos; NDT: nutrientes digestíveis totais (kg/dia); EPM: erro padrão da média; GG: grupo genético; L: linear; Q:quadrático; * ausência de efeito (P > 0,05) para contraste cúbico e para interação QL*Trat;

² - % do total digerido; ³ - % da quantidade ingerida.

Não houve diferença ($P>0,05$) entre os grupos genéticos, antes da infusão abomasal de bases purinas para a composição de bactérias do rúmen cujos valores médios para RNA, N-RNA, N-total e relação N-RNA:N-total, expressos na base da MS, foram de 4,60; 0,67; 6,10 e 0,11, respectivamente (Tabela 3). O fluxo abomasal de RNA, expresso em g/dia, não diferiu ($P>0,05$) entre os grupos genéticos, apresentando média de 38,08 g/dia.

Estes resultados são coerentes, considerando que os animais foram submetidos à dieta única fornecida na mesma proporção do peso corporal e a composição bacteriana está diretamente relacionada ao tipo e à quantidade de alimento ingerido (Maynard et al., 1979).

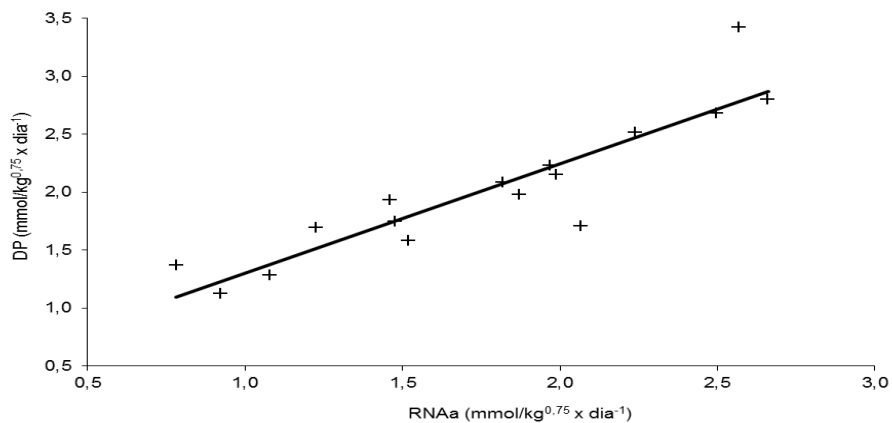
Tabela 3 – Médias estimadas e desvio-padrão para os teores de RNA, N-RNA, N-total e a relação RNA:N-total nos diferentes grupos genéticos.

Item ¹	Grupos Genéticos								EPM ¹	P – valor*		
	Nelore				Holandês					GG ¹	Contrastes	
	Níveis de Infusão (mmol/dia)										L ¹	Q ¹
	0	33	66	100	0	33	66	100				
	Composição de bactérias (%MS)											
RNA	5,729	5,045	3,349	5,101	4,214	3,589	5,097	4,694	0,832	0,369	0,902	0,304
N-RNA	0,831	0,732	0,486	0,739	0,611	0,520	0,739	0,681	0,121	0,645	0,903	0,305
N-total	6,878	6,804	5,572	6,709	5,424	4,956	5,767	6,715	0,739	0,214	0,397	0,117
Nrna:Ntotal	0,121	0,110	0,083	0,107	0,110	0,106	0,132	0,096	0,011	0,588	0,239	0,974
	Fluxo no abomaso (g/dia)											
RNA	42,99	42,52	34,35	41,93	33,89	30,97	36,05	41,97	4,652	0,413	0,371	0,085

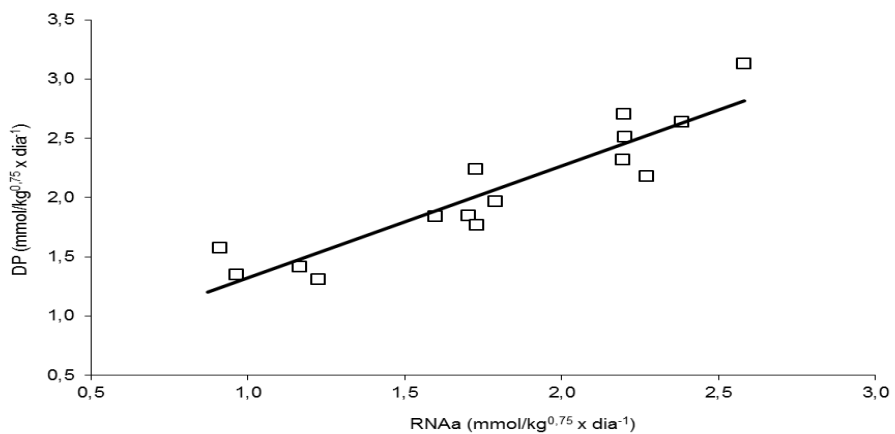
Relacionando-se a excreção de DP e o fluxo diário de purinas no abomaso, expressos em $\text{mmol/kg}^{0,75}$, observou-se que não houve diferença ($P>0,05$) no intercepto e na inclinação, obtendo-se a seguinte regressão:

$$\hat{Y} = 0,389_{\pm 0,201} + 0,051_{\pm 0,308} \times D + 0,926_{\pm 0,105} \times X - 0,014_{\pm 0,160} \times (D \times X); \text{ em que: } D = 0$$

para Nelore e $D = 1$ para Holandesa; $s_{XY} = 0,2212$ (Figura 1). Assim, considerando $D = 0$ para novilhas Nelore, a equação obtida é $\hat{Y} = 0,389 + 0,926X$, onde $0,389 \text{ mmol/kg}^{0,75}$ representa a fração endógena de DP e $0,93$, a recuperação urinária de purinas infundidas (Figura 1a). Considerando $D = 1$ para as novilhas Holandesas, obteve-se a equação $\hat{Y} = 0,439 + 0,911 X$ indicando uma recuperação urinária de $0,911$ e uma fração endógena de $0,439 \text{ mmol/kg}^{0,75}$ (Figura 1b).



(a)



(b)

Figura 1 - Excreção de derivados de purina na urina (DP) em função do fluxo diário de RNA no abomaso (RNA) em novilhas das raças Nelore (a) e Holandesa (b) [$\hat{Y} = 0,389_{\pm 0,201} + 0,051_{\pm 0,308} \times D + 0,926_{\pm 0,105} \times X - 0,014_{\pm 0,160} \times (D \times X)$; em que: $D = 0$ para Nelore e $D = 1$ para Holandesa; $s_{XY} = 0,2212$].

Em relação à diferença entre grupos genéticos apontada por Chen & Ørskov (2003), os valores da fração endógena adotados deveriam ser de 0,147 e 0,385 mmol/kg^{0,75} para animais zebuínos e taurinos, respectivamente. Entretanto, esta recomendação foi embasada nos valores obtidos em experimentos realizados através de técnicas diferentes com animais

de diferentes estádios fisiológicos e de sexos diferentes e os grupos genéticos não foram avaliados sobre as mesmas condições.

Não houve diferença ($P>0,05$) entre as equações, relacionando a excreção de DP e as bases purina absorvidas, obtidas para cada raça individualmente, o que sugere não haver diferenças entre novilhas Nelore e Holandesas, quando submetidas às mesmas condições de alimentação e mesma técnica de infusão abomasal de RNA. Dessa maneira, foi gerada a equação conjunta: $\hat{Y} = 0,405_{\pm 0,148} + 0,923_{\pm 0,077} \times X$; $s_{XY} = 0,219$ (Figura 2), onde $0,405 \text{ mmol/kg}^{0,75}$ representa a fração endógena e $0,92$ representa a recuperação das bases purinas infundidas no abomaso, que é recomendada para novilhas de ambos grupos genéticos.

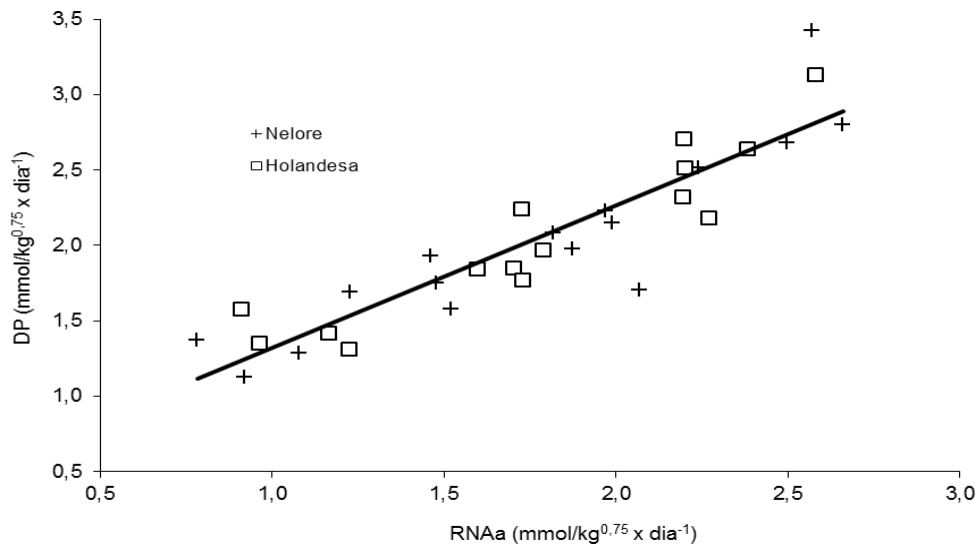


Figura 2 - Excreção de derivados de purina na urina (DP) em função do fluxo diário de RNA no abomaso (RNA) em novilhas das raças Nelore e Holandesa ($\hat{Y} = 0,405_{\pm 0,148} + 0,923_{\pm 0,077} \times X$; $s_{XY} = 0,219$).

Os valores da fração endógena de DP encontrados em literatura para animais *Bos indicus* variam de 0,146 a 0,350 mmol/kg^{0,75} e para animais *Bos taurus*, variam de 0,236 (Orellana-Boero et al., 2001) a 0,531 (Beckers & Théwis, 1994) mmol/kg^{0,75}, encontram-se dentro do intervalo de confiança (IC) determinado neste experimento, que é [IC (β_0)_{0,95}: (0,101 ≤ β_0 ≤ 0,709)], sendo β_0 parâmetro para fração endógena. Esta variação pode ser explicada pelas diferentes técnicas ou classe sexual utilizadas. Orellana-Boero et al. (2001) trabalharam com vacas holandesas secas e utilizaram a técnica de diluição de isótopo (N¹⁵) para bases infundidas, enquanto Beckers & Théwis (1994) utilizaram touros Belgian Blue. Deve-se ressaltar que Barbosa et al. (2011), utilizaram a técnica de infusão de bases purinas no abomaso em novilhas Nelore alimentadas em nível de manutenção obtiveram uma fração endógena de 0,301mmol/kg^{0,75}.

Para a recuperação urinária de purinas infundidas (β_1), o intervalo de confiança é [IC(β_1)_{0,95}: (0,760 ≤ β_1 ≤ 1,086)]. Observa-se que alguns valores relatados em literatura 0,77 (Verbic et al., 1990), 0,85 (Pimpa et al., 2001), encontram-se dentro desse IC. Entretanto, alguns autores relataram valores inferiores como 0,72 (Beckers & Théwis, 1994), 0,68 (Orellana-Boero et al., 2001), 0,58 (Gonzalez-Ronquillo et al., 2003) e 0,74 (Barbosa et al., 2011).

Prasitkusol et al. (2002) sugeriram que a ampla variação na recuperação dos DP na urina entre os experimentos pode ser atribuída às diferentes técnicas utilizadas, mas reforçam que estas fontes de variação precisam ser identificadas para melhorar a precisão do fluxo duodenal de purinas. Chen & Gomes (1992) indicaram que a recuperação dos DP

poderia ocorrer através de rotas não-renais, entretanto, não identificaram a real contribuição dessas rotas.

Mura et al. (1986), através da atividade da xantina oxidase presente no fígado de zebuínos, observaram que praticamente toda hipoxantina era oxidada à ácido úrico e, sabendo-se que os catabólitos dessa reação não podem ser reutilizados na síntese “de novo” de purinas (Chen & Gomes, 1992) e os principais DP na urina de bovinos são alantoína e ácido úrico (Fujihara et al., 1987; Chen & Gomes, 1992; Chen et al., 1990), provavelmente os valores obtidos neste trabalho sejam mais condizentes para bovinos, uma vez que a urina é a principal via de excreção desses DP (Chen & Gomes, 1992). Entretanto, mais estudos devem ser realizados para avaliar a real contribuição das rotas de eliminação dos derivados de purinas renais e não-renais.

Considerando os dados obtidos nesse experimento e a digestibilidade verdadeira das purinas (DVP) de 0,93 (Barbosa et al., 2011), a recuperação de purinas absorvidas (PA) é obtida dividindo-se as purinas infundidas por 0,93. Nesse caso, obteve-se o valor de 0,99 para a recuperação de purinas absorvidas. Assim, as purinas absorvidas podem ser estimadas a partir dos derivados de purinas (DP) na urina pela equação: $PA = (DP - (0,405 \text{mmol/kg}^{0,75}))/0,99$. Já a produção de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) seria estimada a partir das purinas absorvidas conforme modelo proposto por Chen & Gomes (1992): $Nmic \text{ (gN/dia)} = 70 PA / (DVP \times \text{NRNA:Ntotal} \times 1000)$, resultando na seguinte equação $Nmic = 70 PA / (0,93 \times 0,11 \times 1000)$, sendo 0,93 a digestibilidade verdadeira das purinas no intestino delgado (Barbosa et al., 2011) e 0,11 a relação N-RNA:Ntotal obtida nesse experimento.

Não houve interação ($P>0,05$) entre os grupos genéticos e os níveis de infusão abomasal de RNA, assim como não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de infusão e dos grupos genéticos sobre a excreção urinária diária de creatinina, que foi em média de 27,23 mg/kg PC (Tabela 4).

Considerando o intervalo de confiança (β_3) obtido de $[IC(\beta_3)_{0,95}: (35,11 \leq \beta_3 \leq 19,36)]$, observa-se que os valores encontrados na literatura de 27, 36 mg/kg PC (Rennó et al., 2000) e de 26,35 mg/kg PC (Pereira, 2009) estão contidos no IC.

Tabela 4 – Médias estimadas, erro padrão da média e contrastes para excreção diária de creatinina em coleta total de urina em novilhas Nelore e Holandês, nos quatro níveis de infusão de RNA no abomaso.

Item ¹	Grupos Genéticos								EPM ¹	P – valor*		
	Nelore				Holandês					GG ¹	Contrastes	
	Níveis de Infusão (mmol/dia)										L ¹	Q ¹
	0	33	66	100	0	33	66	100				
mg/kg PC	27,67	27,39	27,18	27,37	27,09	27,41	27,18	26,52	0,544	0,714	0,380	0,343

¹ EPM: erro padrão da média; GG: grupo genético; L: linear; Q: Quadrático.

* ausência de efeito ($P > 0,05$) para contraste cúbico e para interação QL*Trat.

CONCLUSÕES

A fração endógena de DP para novilhas Nelore e Holandesas é de 0,405 mmol/kg^{0,75}.

A recuperação de purinas é de 0,92.

A excreção urinária de creatinina não é afetada pelos grupos genéticos, sendo em média 27,23 mg/kg PC.

LITERATURA CITADA

- Allen, M.S., and J.A.V. Linton. In vivo methods to measure digestibility and digestion kinetics of feed fractions in the rumen. In. Rennó, F.P.; Silva, L.F.P. (Eds.) Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes, Pirassununga, 2007. **Anais...** Pirassununga 2007. p.72-89.
- Barbosa, A.M., R.F.D. Valadares, S.C. Valadares Filho, D.S. Pina, E. Detmann, and M.I. Leão. 2011. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **J. Anim. Sci.** 89:510–519.
- Barham, D., and P. Trinder, 1972. An improved colour reagent for the determination of glucose by the oxidase system. **Analyst.** 97:142.
- Beckers, Y., and A. Théwis. 1994. Excretion of purine derivatives in urine of Belgian Blue bulls following duodenal infusion of purines from *Torula* yeast. **Proc. Soc. Nutr. Physiol.** 3:235. (Abstr.)
- Cecava, M.J., N.R. Merchen, L.C. Gay, and L.L. Berger. 1990. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency and isolation techniques. **J. Dairy Sci.** 73:2480–2488.
- Chen, X.B., and E.R. Ørskov. 2003. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. **International Feed Resources Unit**, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen, UK.

- Chen, X.B., E.R. Ørskov and F.D.DeB. Hovell. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **Brit. J. Nutr.** 63:121–129.
- Chen, X.B., and M.J. Gomes. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – An overview of technical details. **International Feed Research Unit**. Rowett Research Institute, Aberdeen, UK. (Occasional publication).
- Detmann, E., and S.C. Valadares Filho. 2010. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 62:980–984.
- Fossati, P., L. Prencipe, and G. Berti. 1980. Use of 3,5-Dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic Acid/4- Aminophenazone Chromogenic System in Direct Enzymic Assay of Uric Acid in Serum and Urine. **Clin. Chem.** 26:227–231.
- Fujihara, T., E.R. Ørskov, P.J. Reeds, and D.J. Kyle. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **J. Agric. Sci.** 109:7–12.
- Gonzalez–Ronquillo, M., J. Balcells, J.A. Guada, and F. Vicente. 2003. Purine derivative excretion in dairy cows: endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **J. Dairy Sci.** 86:1282–1291.
- Henry, R.J., D.C. Cannon, and J.W. Winkelman. 1974. **Clinical Chemistry: Principles and Technics**, 2. ed., Harper & Row, Hagerstown, MD. 526 p.

- Leão, M.I., and J.F. Coelho da Silva. 1980. Técnicas de fistulação de abomaso bezerros. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 17. **Anais**, Sociedade Brasileira de Zootecnia, Fortaleza. 37 p.
- Maynard, L.A, J.K. Loosli, H.F. Hintz, R.G. Warner. 1979. **Animal nutrition**. 7ed. McGraw Hill Book Company. 602p.
- Mertens, D.R. 2003 Challenges in measuring insoluble dietary fiber. **J. Anim. Sci.** 81:3233–3249.
- Mura, U., A.M. Osman, A.S. Mohamed, and P.L. Ipata. 1986. Studies on urine turnover in the Camel (*Camelus dromedarius*) and Zebu (*Bos indicus*). **Comp. Biochem. Physiol.** 84B:589–593.
- Ojeda, A., O. Parra, J. Balcells, and A. Belenguer. 2005. Urinary excretion of purine in *Bos indicus* x *Bos Taurus* crossbred cattle. **Br. J. Nutr.** 93:821–828.
- Orellana-Boero, P., J. Balcells, S.M. Martín-Orúe, J.B. Liang and J.A. Guada. 2001. Excretion of purine derivatives in cows: Endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Lives. Prod. Sci.** 68:243–250.
- Pereira, V.S.A. **Influência do Peso Corporal e das Características de Carcaça sobre a Excreção de Creatinina e Utilização de Coleta Spot de Urina para Estimar a Excreção de Derivados de Purinas e de Compostos Nitrogenados em Novilhas Nelore**. 2009. 51f. Dissertação (Mestrado em Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

- Pimpa, O., J.B. Liang, Z.A. Jelani, and N. Abdullah. 2001. Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah – Kelantan cattle. **Ani. Feed Sci. and Techn.** 92:203–214.
- Prasitkusol, P., E.R. Ørskov, and X.B. Chen. 2002. Variation between sheep in renal excretion of [¹⁴C]allantoin. **Br. J. Nutr.** 87:561–568.
- Rennó, L.N., R.F.D. Valadares, S.C. Valadares Filho, M.I. Leão, J.F. Coelho da Silva, P.R. Cecon, L.C. Gonçalves, H.L.C. Dias, R.S. Linhares. 2000. Concentração Plasmática de Uréia e Excreções de Uréia e Creatinina em Novilhos. **Rev. Bras. Zootec.** 29:1235–1243.
- Silva, D.J., and A.C. Queiroz. 2002. **Análise de alimentos – métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 235p.
- Topps, J.H.; Elliott, R.C. Relationship between concentrations of ruminal nucleic acid and excretion of purine derivatives by sheep. **Nature**, v.205, p.498–499, 1965.
- Ushida, K., B. Lassalas, and J.P. Jouany. 1985. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometry. Influence of sample treatment and preservation. **Reprod. Nutr. Develop.** 25:1037–1046.
- Valadares Filho, S.C., M.I. Marcondes, M.L. Chizzotti, and P.V.R. Paulino. 2010. **BR CORTE – Nutrient Requirements of Zebu Beef Cattle**. 2. Ed. Viçosa, MG: UFV, DZO, 185p.

- Van Niekerk, B.D.H., A. Bensadoun, O.L. Paladines, and J.T. Reid. 1963. A study of some of the conditions affecting the rate of excretion and stability of creatinine in sheep urine. **J. Nutr.** 79:373–380.
- Van Soest, P.J. 1994. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. Ed. Ithaca: Cornell University. 217p.
- Verbic, J., X.B. Chen, N.A. MacLeod and E.R. Ørskov. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants: Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivatives excretion by steers. **J. Agric. Sci.** 114:243–248.
- Weiss, W.P. 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS. Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 61:176–185.
- Willians, C.H., D.J. David and O. Iisma. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **J. Agric. Sci.** 59:381-385.

Apêndice

Tabela 1.A- Consumos diários de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (CFDN_{CP}), carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (CNDT), em kg/dia e em %PC, para as diferentes doses de infusão abomasal de RNA.

Anim	QL	PC (kg)	Per	Trat	CMS (kg)	CMS (%PC)	CMO (kg)	CPB (kg)	CEE (kg)	CFDN _{CP} (kg)	CFDN _{CP} (%PC)	CCNF (kg)	CNDT (kg)
48	1	285	1	0	4.08	1.43	3.92	0.41	0.09	1.40	0.49	2.02	3.07
123	2	212	1	0	3.04	1.43	2.91	0.31	0.07	1.04	0.49	1.50	2.18
43	1	265	2	0	3.81	1.44	3.67	0.40	0.09	1.29	0.49	1.90	3.00
810	2	226	2	0	3.24	1.43	3.12	0.34	0.08	1.10	0.49	1.61	2.42
45	1	223	3	0	3.00	1.35	2.87	0.33	0.07	0.99	0.45	1.48	2.04
22	2	219	3	0	2.95	1.35	2.82	0.33	0.07	0.98	0.45	1.46	2.28
44	1	308	4	0	3.99	1.29	3.84	0.44	0.09	1.32	0.43	2.01	3.17
160	2	237	4	0	3.07	1.30	2.96	0.34	0.07	1.01	0.43	1.55	2.43
43	1	265	1	33	3.79	1.43	3.64	0.38	0.09	1.30	0.49	1.87	2.65
810	2	226	1	33	3.24	1.43	3.11	0.33	0.08	1.11	0.49	1.60	2.35
44	1	288	2	33	4.13	1.43	3.98	0.43	0.10	1.40	0.49	2.06	3.22
160	2	234	2	33	3.36	1.44	3.24	0.35	0.08	1.14	0.49	1.67	2.51
48	1	293	3	33	3.94	1.35	3.77	0.44	0.10	1.30	0.45	1.95	2.88
123	2	216	3	33	2.90	1.34	2.78	0.32	0.07	0.96	0.45	1.44	2.28
45	1	225	4	33	2.91	1.29	2.80	0.32	0.06	0.96	0.43	1.47	2.21
22	2	225	4	33	2.91	1.29	2.80	0.32	0.06	0.96	0.43	1.47	2.23
44	1	288	1	66	4.12	1.43	3.95	0.41	0.10	1.41	0.49	2.04	3.00
160	2	234	1	66	3.35	1.43	3.21	0.34	0.08	1.15	0.49	1.66	2.49
45	1	217	2	66	3.11	1.43	3.00	0.33	0.08	1.05	0.49	1.55	2.24
22	2	204	2	66	2.93	1.44	2.82	0.31	0.07	0.99	0.49	1.46	2.09
43	1	276	3	66	3.72	1.35	3.56	0.41	0.09	1.23	0.45	1.84	2.58
810	2	235	3	66	3.17	1.35	3.03	0.35	0.08	1.05	0.45	1.57	2.43
48	1	297	4	66	3.85	1.29	3.70	0.42	0.09	1.27	0.43	1.94	2.73

Anim	QL	PC (kg)	Per	Trat	CMS (kg)	CMS (%PC)	CMO (kg)	CPB (kg)	CEE (kg)	CFDN _{CP} (kg)	CFDN _{CP} (%PC)	CCNF (kg)	CNDT (kg)
123	2	225	4	66	2.91	1.29	2.80	0.32	0.06	0.96	0.43	1.47	.
45	1	220	1	100	3.15	1.43	3.02	0.32	0.07	1.08	0.49	1.56	2.22
22	2	208	1	100	2.97	1.43	2.85	0.30	0.07	1.02	0.49	1.47	2.07
48	1	281	2	100	4.03	1.44	3.89	0.42	0.10	1.37	0.49	2.01	3.19
123	2	207	2	100	2.97	1.44	2.86	0.31	0.07	1.01	0.49	1.48	2.11
44	1	302	3	100	4.06	1.35	3.89	0.45	0.10	1.34	0.45	2.01	3.13
160	2	244	3	100	3.28	1.35	3.14	0.36	0.08	1.09	0.45	1.62	2.37
43	1	287	4	100	3.72	1.30	3.58	0.41	0.08	1.23	0.43	1.88	2.73
810	2	245	4	100	3.17	1.30	3.06	0.35	0.07	1.05	0.43	1.60	2.48

Tabela 2.A- Coeficientes de digestibilidade aparente total para matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), extrato etéreo (DEE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (DFDN_{CP}), proteína bruta (DPB) e carboidratos não-fibrosos (DCNF), expressos em %, e teor de nutrientes digestíveis totais, em %, para as diferentes doses de infusão abomasal de RNA.

ANI	QL	PC	PER	TRA	DMS	DMO	DEE	DFDN _{CP}	DPB	DCNF	NDT
48	1	285	1	0	74.16	75.46	85.70	58.16	66.37	88.95	75.10
123	2	212	1	0	70.69	72.19	85.23	58.06	60.11	83.97	71.95
43	1	265	2	0	77.78	78.72	88.60	65.12	71.74	89.09	78.83
810	2	226	2	0	73.20	74.57	85.09	61.70	63.75	85.25	74.73
45	1	223	3	0	66.45	67.91	83.85	56.20	60.69	76.78	67.89
22	2	219	3	0	75.83	77.78	86.50	60.79	69.27	90.78	77.43
44	1	308	4	0	78.77	79.94	83.35	65.97	69.99	91.24	79.61
160	2	237	4	0	77.74	79.32	85.16	64.94	69.83	90.67	79.06
43	1	265	1	33	68.19	70.01	83.93	56.77	63.63	80.01	69.83
810	2	226	1	33	71.87	72.86	86.63	60.03	63.88	83.08	72.63
44	1	288	2	33	76.31	77.96	83.93	62.79	66.72	90.50	77.96
160	2	234	2	33	72.45	74.56	85.50	60.55	59.62	86.86	74.73
48	1	293	3	33	71.83	73.48	82.01	64.62	68.62	80.26	73.18
123	2	216	3	33	77.44	78.91	84.91	63.87	68.47	91.17	78.46
45	1	225	4	33	74.20	76.11	83.53	55.44	67.48	91.36	75.92
22	2	225	4	33	74.58	76.78	86.09	61.86	67.53	88.32	76.64
44	1	288	1	66	71.41	73.14	82.86	60.78	61.62	83.74	72.79
160	2	234	1	66	73.08	74.52	87.82	57.16	63.57	88.30	74.26
45	1	217	2	66	70.06	71.78	86.56	60.98	61.43	80.76	72.09
22	2	204	2	66	68.78	70.91	85.62	55.67	56.42	83.80	71.23
43	1	276	3	66	67.88	69.66	79.88	55.76	59.68	80.88	69.45
810	2	235	3	66	75.74	77.14	88.58	61.05	65.51	90.09	76.87
48	1	297	4	66	69.47	70.84	86.62	56.32	64.43	81.24	70.93
123	2	225	4	66

ANI	QL	PC	PER	TRA	DMS	DMO	DEE	DFDN _{CP}	DPB	DCNF	NDT
45	1	220	1	100	69.11	70.95	81.76	60.19	58.98	80.51	70.67
22	2	208	1	100	67.67	69.73	81.68	57.54	54.94	80.81	69.49
48	1	281	2	100	78.01	79.05	90.05	66.14	71.15	89.09	79.20
123	2	207	2	100	68.52	70.73	81.32	55.29	55.35	84.14	70.92
44	1	302	3	100	75.59	77.39	82.81	60.48	69.42	90.37	76.94
160	2	244	3	100	70.45	72.40	79.51	60.77	62.91	82.14	72.06
43	1	287	4	100	71.82	73.44	79.46	57.72	62.62	86.00	73.24
810	2	245	4	100	76.52	78.18	87.77	61.49	69.59	90.70	78.03

Tabela 3.A- Coeficientes de digestibilidade ruminal para matéria seca (DRMS), matéria orgânica (DRMO), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (DRFDN_{CP}) e carboidratos não-fibrosos (DRCNF), expressos em % do total digestível, proteína bruta (DRPB) e extrato etéreo (DREE), expressos em % do ingerido, para as diferentes doses de infusão abomasal de RNA.

ANIM	QL	PC(kg)	PER	TRAT	DRMS	DRMO	DRFDNCP	DREE	DRPB	DRCNF
48	1	285	1	0	64.89	68.03	93.37	26.75	18.29	60.89
123	2	212	1	0	70.48	73.45	92.76	16.18	28.92	69.38
43	1	265	1	33	40.03	47.83	77.23	-5.90	-5.12	23.40
810	2	226	1	33	60.76	65.32	87.29	18.03	26.09	61.80
44	1	288	1	66	55.28	60.26	98.76	0.12	-1.68	72.87
160	2	234	1	66	75.97	79.58	89.77	15.22	19.40	70.62
45	1	220	1	100	76.57	80.08	98.08	-1.90	34.13	79.01
22	2	208	1	100	70.65	74.81	95.64	12.01	-1.13	80.75
43	1	265	2	0	25.61	35.18	76.64	34.39	-9.86	44.22
810	2	226	2	0	61.81	66.70	83.32	44.28	30.14	62.59
44	1	288	2	33	62.44	69.82	92.56	10.96	7.27	71.48
160	2	234	2	33	75.87	79.65	97.43	32.92	26.68	79.70
45	1	217	2	66	79.27	82.83	86.63	15.30	31.14	18.89
22	2	204	2	66	63.78	68.04	91.39	28.43	18.50	60.27
48	1	281	2	100	29.57	35.78	79.04	8.26	14.63	54.08
123	2	207	2	100	75.78	79.23	90.67	27.49	28.78	62.19
45	1	223	3	0	75.74	77.94	92.18	34.69	40.74	54.61
22	2	219	3	0	66.97	70.65	92.70	12.33	23.63	83.03
48	1	293	3	33	38.84	40.65	98.69	34.80	23.40	84.19
123	2	216	3	33	61.71	64.71	94.88	20.84	18.99	63.59
43	1	276	3	66	67.64	72.22	97.07	27.58	37.25	64.20
810	2	235	3	66	56.07	59.57	78.72	17.41	30.38	56.40
44	1	302	3	100	74.30	77.79	94.25	26.94	35.38	63.11
160	2	244	3	100	78.67	81.71	98.23	36.40	40.72	79.19

ANIM	QL	PC(kg)	PER	TRAT	DRMS	DRMO	DRFDNCP	DREE	DRPB	DRCNF
44	1	308	4	0	75.06	79.25	90.11	-9.47	31.80	77.86
160	2	237	4	0	75.43	78.87	72.19	-12.90	31.72	20.80
45	1	225	4	33	50.35	55.38	96.06	-50.29	20.04	79.95
22	2	225	4	33	63.16	67.67	95.67	-9.47	6.95	75.87
123	2	225	4	66	63.32	66.89	95.82	0.57	15.77	82.29
43	1	287	4	100	48.48	57.22	87.76	18.72	11.28	50.72
810	2	245	4	100	54.54	61.25	81.86	10.21	16.23	59.94

Tabela 4.A- NRNA na matéria seca (NRNAMS), fluxo de RNA no abomaso (FRNAabo), em g/dia, fluxo de NRNA no abomaso (FNRNA abo), em g/dia e fluxo de N microbiano no abomaso (FNmic), em g/dia, nas diferentes doses de infusão abomasal de RNA.

Animal	Trat	Período	QL	PC (kg)	NRNA MS	FRNA abo (g/d)	FNRNA abo (g/d)	FNmic (g/d)
48	0	1	1	285	0,203	28,120	4,077	38,446
43	0	2	1	265	0,177	41,720	6,049	57,041
45	0	3	1	223	0,240	32,259	4,678	44,105
44	0	4	1	308	0,283	35,090	5,088	47,977
123	0	1	2	212	0,226	20,461	2,967	27,975
810	0	2	2	226	0,139	23,258	3,372	31,799
22	0	3	2	219	0,372	34,276	4,970	46,863
160	0	4	2	237	0,329	30,175	4,375	41,256
43	33	1	1	265	0,192	33,763	4,896	46,520
44	33	2	1	288	0,292	45,922	6,659	63,274
48	33	3	1	293	0,141	26,850	3,893	36,995
45	33	4	1	225	0,237	20,753	3,009	28,594
810	33	1	2	226	0,114	22,570	3,273	31,098
160	33	2	2	234	0,226	26,373	3,824	36,339
123	33	3	2	216	0,261	23,580	3,419	32,490
22	33	4	2	225	0,276	20,190	2,928	27,820
44	66	1	1	288	0,205	31,989	4,638	43,960
45	66	2	1	217	0,205	27,062	3,924	37,189
43	66	3	1	276	0,227	30,616	4,439	42,074
123	66	4	1	225	0,190	29,899	4,335	41,088
160	66	1	2	234	0,270	29,117	4,222	40,014
22	66	2	2	204	0,236	23,405	3,394	32,164
810	66	3	2	235	0,196	31,447	4,560	43,215
45	100	1	1	220	0,312	24,014	3,482	35,286
48	100	2	1	281	0,129	32,965	4,780	48,438
44	100	3	1	302	0,333	39,845	5,778	58,548
43	100	4	1	287	0,167	20,439	2,964	30,033
22	100	1	2	208	0,281	19,122	2,773	28,097
123	100	2	2	207	0,252	35,417	5,135	52,041
160	100	3	2	244	0,226	29,616	4,294	43,517
810	100	4	2	244	0,173	33,197	4,814	48,779

Tabela 5.A- Excreção urinária de derivados de purina, em $\text{mmol/kg}^{0,75}$, e RNA no abomaso (RNA abo), em $\text{mmol/kg}^{0,75}$, nas diferentes doses de infusão de RNA.

Anim	QL	Trat	PV (kg)	DP ($\text{mmol/kg}^{0,75}$)	RNA abo ($\text{mmol/kg}^{0,75}$)
48	1	0	285	1,37	0,78
43	1	0	265	1,69	1,23
45	1	0	223	1,28	1,08
44	1	0	308	1,12	0,92
48	1	33	293	1,75	1,48
43	1	33	265	1,98	1,87
45	1	33	225	1,58	1,52
44	1	33	288	2,08	1,82
48	1	66	297	1,93	1,46
43	1	66	276	2,15	1,99
45	1	66	217	2,51	2,24
44	1	66	288	2,23	1,97
48	1	100	281	2,68	2,50
43	1	100	287	1,71	2,07
45	1	100	220	2,80	2,66
44	1	100	302	3,42	2,57
123	2	0	212	.	0,87
810	2	0	226	1,58	0,91
22	2	0	219	1,42	1,16
160	2	0	237	1,35	0,96
123	2	33	216	1,85	1,70
810	2	33	226	1,85	1,60
22	2	33	225	1,31	1,22
160	2	33	234	2,24	1,73
123	2	66	225	1,77	1,73
810	2	66	235	1,97	1,79
22	2	66	204	2,71	2,20
160	2	66	234	2,32	2,19
123	2	100	207	2,64	2,38
810	2	100	245	2,18	2,27
22	2	100	208	3,13	2,58
160	2	100	244	2,52	2,20

Tabela 6.A- Excreção urinária diária de creatinina, em mg/kg PC, nas diferentes doses de infusão abomasal de RNA.

Anim	QL	Trat	PC (kg)	Creat (mg/kg PC)
48	1	0	285	28,33
43	1	0	265	26,28
45	1	0	223	27,24
44	1	0	308	27,22
48	1	33	293	28,49
43	1	33	265	26,64
45	1	33	225	26,56
44	1	33	288	27,89
48	1	66	297	26,86
43	1	66	276	26,57
45	1	66	217	27,77
44	1	66	288	27,51
48	1	100	281	28,26
43	1	100	287	26,26
45	1	100	220	27,10
44	1	100	302	27,89
123	2	0	212	24,81
810	2	0	226	26,93
22	2	0	219	28,22
160	2	0	237	28,40
123	2	33	216	26,14
810	2	33	226	27,39
22	2	33	225	29,10
160	2	33	234	27,01
123	2	66	225	.
810	2	66	235	26,40
22	2	66	204	28,70
160	2	66	234	27,35
123	2	100	207	25,41
810	2	100	245	26,78
22	2	100	208	26,09
160	2	100	244	27,78