

JARBAS MIGUEL DA SILVA JÚNIOR

**EXCREÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE PURINAS E DE COMPOSTOS
NITROGENADOS DE ZEBUÍNOS EM PASTEJO**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

S586e
2014
Silva Júnior, Jarbas Miguel, 1987-
Excreção urinária de derivados de purinas e de compostos
nitrogenados de zebuínos em pastejo / Jarbas Miguel Silva Júnior. -
Viçosa, MG, 2014.
x, 38f : il. ; 29 cm.

Orientador: Luciana Navajas Rennó.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Zebu. 2. Zebu - Urina - Análise. 3. Derivados de Purina.
4. Pastagens. I. Universidade Federal de Viçosa. Zootecnia. Programa
de Pós-graduação em Zootecnia. II. Título.

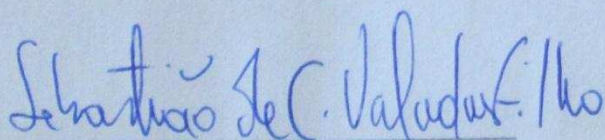
CDD 22. ed. 636.291

JARBAS MIGUEL DA SILVA JÚNIOR

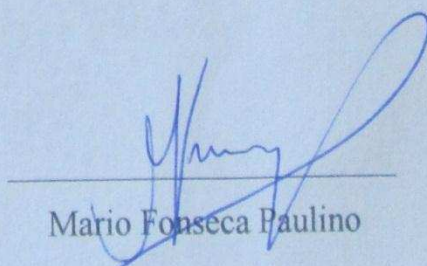
**EXCREÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE PURINAS E DE COMPOSTOS
NITROGENADOS DE ZEBUÍNOS EM PASTEJO**

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

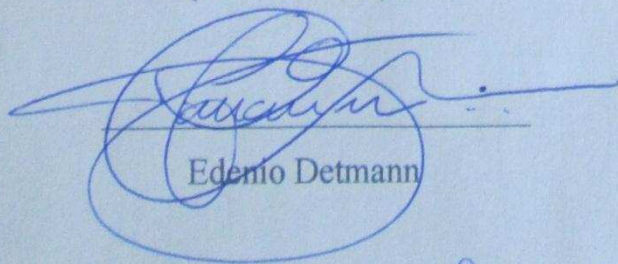
APROVADA: 21 de julho de 2014.



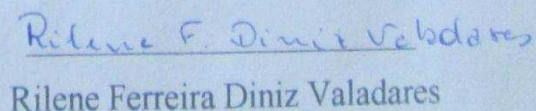
Sebastião de Campos Valadares Filho
(Coorientador)



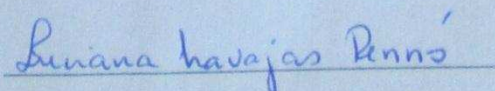
Mario Fonseca Paulino
(Coorientador)



Edenio Detmann



Rilene Ferreira Diniz Valadares



Luciana Navajas Rennó
(Orientadora)

Dedicatória

Dedico a minha família e amigos pelo apoio incondicional, permitindo assim que esse trajeto fosse possível e agradável de ser feito.

Os grandes feitos são conseguidos não pela força, mas pela perseverança.

Samuel Johnson

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por tudo que ele tem feito em minha vida.

Agradeço a mim, pela força de vontade, dedicação e garra, e a cima de tudo por me aturar.

A minha mãe (Terezinha) e meu pai (Jarbas) pelo carinho, compreensão e auxílio nos momentos de aperto financeiro.

Aos meus irmãos (Ailton, Antônio e Adriano) e principalmente a Adriana e Adeilton por serem pessoas com quem eu sei que sempre poderei contar.

Aos meus sobrinhos (Lorena, Jarbinhas, Ana Laura, Antony, Izadora e Elisa) por alegrarem meus telefonemas pra casa.

A Capes pela concessão da bolsa de estudos.

Ao CNPq, INCT-Ciência Animal, Fapemig pelo financiamento parcial deste projeto.

Ao DZO – UFV por me permitir seguir esse caminho.

A Professora Luciana Rennó pela ajuda, carinho, cuidado, dedicação e principalmente paciência (oh cabeça dura essa minha) em me ensinar a melhor forma de chegar onde quero.

Ao Professor Sebastião pelos conhecimentos proporcionados e pela sua dedicação a este experimento.

Ao Mario Paulino, Edenio, Rilene, Cristina e Stefanie (luxus) pelas contribuições na construção desta dissertação.

Aos estagiários Marcelo, Pedro, Diego (Baiano) pela ajuda nos períodos de coleta do experimento.

Aos irmãos de orientação e de coração, que possibilitaram momentos divertidos ao longo do mestrado, principalmente durante o experimento, muito obrigado a Taiane, Lyvian (piriguete) e Ricardo (Tchiqueira).

A meus amigos da zootecnia: Diego (Gnomo de Jardim), Laura, Lays, Marcelo Grossi, Dani Baffa, Karina, Dani Oss, Vanessa (Sara), Paloma, Josi, Aline (Sinhá), Felipe (Peão), Luiz (Janauba), Mariele, Iana (Iara), Aline (Alinão), Marquim, Ana Clara, Flavão, Breno, Helvio (Junin), Camila, Victor, William (doidão da bala), Cesar, Leandro, Herlon entre tantos outros (que me perdoem, mas vocês sabem como é meu cérebro), muito obrigado pelas risadas e conversas sem futuro, também pelas serias, ao longo desses dois anos.

A Gercino (Gercilhuda) pela amizade, conversas atuas e momentos de diversão.

Aos funcionários do DZO: Marcelino, Neco, Pum, Plinio, Tio Jojo, Monteiro, pela ajuda durante o mestrado.

A meus amigos de Viçosa: Daniel, Matheus Braga, Matheus Felipe, Marcelo, Marco Tulio, Alvino, Beatriz, Augusto, Luciana, Nubia, Barbara (Bah).

A minha família maluca, tanto amo, que surgiu do nada e se fez presente e forte, minha ex-esposa (Debora), minha filha (Carla), meu filho (Wando), minhas netas (Amanda e Andreia), essa família Capivara é doida, mas vale a pena.

Ao ANTFA pela sua existência na presidência do Marcelo Grossi.

As minhas novilhas (Beyonce, Gaga, Katy, Rihanna e Shakira) pela colaboração neste experimento.

Aos meus amigos de Garanhuns/PE: Amanda, Kessia, Rozeana, PC, meu irmão gêmeo de pais diferentes (Geison), por serem pessoas com quem conversar horas no telefone são sinônimos de momentos de risadas e diminuição no montante da saudade.

Ao meu companheiro de casa, Bruno, por me aturar, tarefa difícil essa.

Aos meus amigos/irmãos/mentores/pilares Paulo e Amanda pelas conversas que sempre me colocaram de volta a realidade, e aos filhos dela (Sophia e Matheus), que me faziam rir como ninguém, família que infelizmente foi retirada as pressas desse mundo para brilhar mais forte em outro plano (*in memoriam*).

Enfim de A a Z, agradeço a todos pela colaboração.

Biografia

JARBAS MIGUEL DA SILVA JÚNIOR, filho de Terezinha Pereira Reges da Silva e Jarbas Miguel da Silva, nasceu em Garanhuns/PE em 22 de dezembro de 1987.

Em 2006 ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia da Unidade Acadêmica de Garanhuns da UFRPE, entre 2009 e 2010 realizou mobilidade acadêmica com a Universidade Federal de Viçosa, concluindo o curso em novembro de 2012.

Em novembro de 2012 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia da UFV, concentrando seus estudos na área de Produção e Nutrição de Ruminantes, tendo defendido dissertação em Julho de 2014.

Sumário

Resumo	vii
Abstract.....	ix
Introdução Geral	1
Referências Bibliográficas.....	7
Introdução.....	12
Material e métodos	13
Animais, delineamento experimental e suplementos.....	13
Procedimentos experimentais e amostragens.....	15
Análises laboratoriais.....	16
Análise estatística	18
Resultados e Discussão.....	18
Conclusão	34
Referências Bibliográficas.....	34

Resumo

SILVA JUNIOR, Jarbas Miguel, MSc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2014. **Excreção urinária de derivados de purinas e de compostos nitrogenados de zebuínos em pastejo.** Orientadora: Luciana Navajas Rennó, Coorientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Mario Fonseca Paulino.

O presente trabalho foi desenvolvido com os objetivos de avaliar a excreção dos derivados de purinas e de compostos nitrogenados em zebuínos em pastejo, em diferentes dias e períodos dentro de dias. O experimento foi conduzido no setor de gado de corte da Universidade Federal de Viçosa/MG, utilizando-se cinco novilhas Nelore com peso corporal médio de $300 \pm 15\text{kg}$ e 20 meses de idade, distribuídas em quadrado latino 5x5. Os tratamentos experimentais foram definidos para representar aqueles normalmente utilizados na época seca do ano, sendo eles: controle (sal mineral), concentrado com 20,31% de proteína bruta (PB) com base na matéria seca (MS) sendo oferecido (OF) em nível de 0,5 e 1% do peso corporal em jejum (PCJ), OF5 e OF10, respectivamente; e dois concentrados autorreguladores (AR) de consumo, um contendo 69,38% PB com base na MS (20% de ureia e 20% de sal) ofertado *ad libitum* (AR70) e outro concentrado contendo 39,73% PB com base na MS sendo ofertado *ad libitum* (AR40). Os períodos experimentais possuíram 18 dias, sendo o dia um para realização de jejum de 14 horas para pesagem e ajuste das quantidades fornecidas, 12 para adaptação dos animais às dietas experimentais e cinco para a coleta total de urina e amostral de fezes, nos horários das 0h00 às 4h00, 4h00 às 8h00, 8h00 às 12h00, 12h00 às 16h00, 16h00 às 20h00 e 20h00 às 24h00. Para a coleta total de urina utilizou-se sonda de Folley nº26, acoplada a mangueira de polietileno que conduziu a urina até uma bolsa coletora de urina por sistema fechado, que foi esvaziada a cada duas horas no intervalo das 8h00 às 20h00, e a cada quatro horas no intervalo das 20h00 às 8h00, sendo posteriormente homogeneizadas e resfriadas. A amostragem da urina coletada foi realizada a cada 4 horas, medindo-se o volume e retirando-se duas amostras, uma diluída com solução H_2SO_4 0,036N e não diluída. Para determinação da excreção fecal, utilizou-se o dióxido de titânio, fornecido na quantidade total diária de 15g, entre os dias 9 e 18 de cada período. Para estimativa do consumo de pasto, utilizou-se a fibra indigestível em detergente neutro (FDNi), como indicador interno. Realizou-se coleta de pasto pela técnica do quadrado para determinação da matéria seca potencialmente digestível (MSpd) no terceiro dia de cada período experimental, e nos dias 14º e 18º

realizou-se simulação de pastejo para estimar os consumos dos constituintes das dietas. Nas amostras de urina foram determinadas as concentrações de creatinina, nitrogênio total, ureia, ácido úrico e alantoína. Para análise estatística utilizou-se o programa estatístico Proc Mixed do SAS. O consumo de MS foi superior ($P < 0,05$) para o tratamento OF10 em relação aos tratamentos AR70, AR40 e controle, mas não diferiu ($P > 0,05$) do tratamento OF5. O consumo de PB aumentou com a suplementação ($P < 0,05$), que não causou efeito sobre o consumo de MS do pasto. As excreções de creatinina não sofreram efeito de tratamento, dia e período de coleta ($P > 0,05$) e apresentaram média de $23,03 \pm 0,30$ mg/kgPC. As relações urinárias da alantoína (Al) e do ácido úrico (AU) com a creatinina não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelos tratamentos, dias de coleta e horários de coleta. As relações nitrogênio total:creatinina e nitrogênio ureico:creatinina na urina apresentaram interação ($P < 0,05$) entre tratamento e período de coleta. A relação entre nitrogênio ureico:nitrogênio total foi influenciada ($P < 0,05$) apenas pelo horário de coleta. O balanço de compostos nitrogenados (BN), em g/dia, não diferiu entre os tratamentos OF10, AR70 e AR40, contudo esses apresentaram maiores retenções de N ($P < 0,05$) que os tratamentos OF5 e controle, que não foram diferentes. O BN, em g/ging, apresentou diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos com concentrado, que não diferiram entre si ($P > 0,05$), e tratamento controle, que apresentou o menor BN. A produção de compostos nitrogenados microbianos não foi alterada ($P > 0,05$) pelos tratamentos. A eficiência microbiana, em gPBmic/kgMOD e gPBmic/kgNDT foi afetada ($P < 0,05$) pela suplementação, sendo maior ($P < 0,05$) para os tratamentos OF5, OF10 e AR70, que não diferiram entre si. Os tratamentos controle e OF5, apresentaram os menores valores e foram semelhantes entre si. A ausência de efeito de dia e do período de coleta sobre a relação alantoína e ácido úrico com a creatinina tem grande aplicação prática, possibilitando utilizar a amostra *spot* de urina para calcular a excreção de derivados de purinas em qualquer horário do dia ou da noite, e conseqüentemente a produção microbiana. Em função das variações observadas para as relações nitrogênio ureico e nitrogênio total com a creatinina ao longo do período de 24 horas não se recomenda o uso de uma única amostra *spot* de urina para determinação destes compostos nitrogenados.

Abstract

SILVA JUNIOR, Jarbas Miguel, MSc., Universidade Federal de Viçosa, July 2014. **Urinary excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in zebu cattle grazing.** Advisor: Luciana Navajas Rennó, Co-advisors: Sebastião de Campos Valadares Filho and Mario Fonseca Paulino.

This study aimed evaluating the excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in zebu cattle grazing, on different days and times within days. The experiment was conducted in the cattle department of the Federal University of Viçosa / MG, using five Nelore heifers with an average body weight of 300 ± 15 kg and 20 months of age, in 5x5 Latin square design. The experimental treatments were defined to represent those commonly used in the dry season, as follows: control (mineral salt), concentrated with 20.31% crude protein (CP) on dry matter (DM) being offered (OF) level of 0.5 to 1% of body weight fasted (BWF) OF5 and OF10, respectively; and two concentrated self-regulating (SR) consumption, containing 69.38% CP on a DM basis (20% urea and 20% salt) offered ad libitum (SR70) and other concentrate containing 39.73% CP based on MS being offered ad libitum (SR40). The experimental periods was 18 days, with one day to perform 14 hours of fasting for weighing and adjustment of the quantities supplied, 12 days for adaptation to the experimental diets and five for total collection of urine and stool sample at the times of 0h00a.m. to 4h00a.m, 4h00a.m. to 8:00a.m., 8:00a.m. to 12:00p.m., 12:00p.m. to 4:00p.m., 4:00p.m. to 8:00p.m. and 20:00p.m. to 0:00a.m. For total collection of urine was used probe Folley number 26, coupled to polyethylene hose leading to a urine collection bag for urine closed system, which was emptied every two hours in the range of 8:00a.m. to 8:00p.m., and every four hours in the range from 8:00p.m. to 8:00a.m. and subsequently homogenized and cooled. The collected urine sampling was performed every four hours, measuring the volume, and withdrawing one sample were diluted in H_2SO_4 at 0,036N and another don't diluted. To estimate fecal output, used the titanium dioxide, provided the total daily amount of 15g, between 9th and 18th day of each period. To estimate the intake of pasture, used the indigestible neutral detergent fiber (iNDF) as internal indicator. Was performed by collecting pasture technique for determining the square potentially digestible dry matter (PDDM) on the third day of each experimental period, and on days 14th and 18th was held grazing simulation to estimate the consumption of constituents of diets. In urine samples the concentrations of creatinine, total nitrogen, urea, uric acid and allantoin. For statistical analysis we used the statistical program SAS Proc Mixed. Dry matter intake

was higher ($P < 0.05$) for the treatment OF10 compared to SR70, SR40 and control treatments but was not different ($P > 0.05$) treatment OF5. The CP intake increased by supplementation ($P < 0.05$), which caused no effect on DM intake from pasture. Excretions of creatinine did not change treatment, day and sampling period ($P > 0.05$) and had a mean of 23.03 ± 0.30 mg / kgPC. Urinary relations of allantoin (Al) and uric acid (UA) with creatinine were not affected ($P > 0.05$) by treatments, collection days and times of collection. The total nitrogen relations:creatinine and urea nitrogen:creatinine in urine showed interaction ($P < 0.05$) between treatment and sampling period. The relationship between urea nitrogen:total nitrogen was influenced ($P < 0.05$) only at time of collection. The nitrogen balance (NB) in g/day did not differ between treatments OF10, SR70 and SR40, however these had higher retention of N ($P < 0.05$) than treatments OF5 and control, which were not different. The NB, in g/ging, showed differences ($P < 0.05$) between treatments with concentrated, which did not differ ($P > 0.05$), and control treatment, with the lowest NB. The production of microbial N was not affected ($P > 0.05$) by treatments. The microbial efficiency gPBmic/kgMOD and gPBmic/kgNDT was affected ($P < 0.05$) by supplementation, being higher ($P < 0.05$) for OF5, OF10 and SR70 treatments, which did not differ. The control and OF5, treatments had the lowest values were similar. The lack of effect of day and the collection period on allantoin and uric acid compared with creatinine has wide practical application, enabling use spot urine sample to calculate the excretion of purine derivatives at any time of day or night, and consequently the microbial production. Depending on the variations observed for total nitrogen and urea nitrogen relations with creatinine over 24 hours is not recommended the use of a single spot urine sample for determination of these nitrogen compounds.

Introdução Geral

A situação econômica do Brasil tem passado por várias transformações nos últimos anos, ganhando espaço novas concepções, atitudes e ações, onde a produtividade, o controle dos custos operacionais e a eficiência desta produção se impõem como regra de sobrevivência e competitividade em um mercado cada vez mais exigente (Barbosa et al., 2012).

A pecuária nacional assume grande importância econômica, uma vez que gera emprego e renda e participa consideravelmente do produto interno bruto (PIB), respondendo por cerca de 30% do PIB do agronegócio e 6,43% do PIB total do Brasil no ano de 2013 (CEPEA, 2014). A carne e leite bovinos constituem a principal fonte de proteína de origem animal na dieta dos brasileiros (Chizzotti, 2004), gerando assim necessidade do aumento da produção de alimento (carne) para atender a demanda (Valadares Filho et al., 2014), de forma sustentável e competitiva (Paulino et al., 2014).

Embora a pecuária esteja embasada em diferentes vertentes há a necessidade de que esta seja sustentável, inovadora e lucrativa, com metodologias que visem à diminuição de custos e maximização da eficiência produtiva, principalmente no que diz respeito à nutrição animal, minimizando ou evitando gastos desnecessários (Paulino et al., 2014; Ribas et al., 2014).

O Brasil apresenta o maior rebanho comercial do mundo, com 209 milhões de cabeças (ABIEC, 2013), ocupando a segunda posição como maior exportador de carne e como maior produtor mundial (ABIEC, 2011; Arrigoni et al., 2012).

Uma característica básica dos sistemas de produção de bovinos de corte destinados à produção de carne no Brasil é pautada na utilização de pastagens (Casagrande, 2013), embora apresente sistemas de produção peculiares e diferentes modelos de manejo (Arrigoni et al., 2012).

No que diz respeito à pastagem, segundo Paulino et al. (2014), os ciclos de produção por serem longos e permanentes, conferem variação sazonal e inerente ao próprio clima, aos estados fenológicos e à fisiologia de crescimento das forrageiras, permitindo assim variação na quantidade e qualidade da forrageira disponível para o consumo animal, havendo decréscimo mais acentuado no período seco (Detmann et al., 2014a).

O rebanho brasileiro apresenta baixos índices produtivos e econômicos, com baixa produtividade média de carne por hectare, o que deixa a desejar para uma pecuária desenvolvida, o que leva à necessidade de um melhor conhecimento da

dinâmica produtiva e a aplicação de tecnologias que possibilitem não só incrementos em produtividade, mas também em rentabilidade para o pecuarista (Valadares Filho et al., 2006).

Torna-se necessário assim, a adoção de tecnologias que proporcionem melhores índices produtivos na interação pastagem-animal, uma vez que em determinadas épocas do ano há declínio na oferta de forragem, o que gera efeito sanfona (ganho e perda de peso) no bovino durante a época seca, diminuindo assim a eficiência do sistema produtivo, gerando um produto mais tardio e de menor qualidade (Paulino et al., 2004; Paulino et al., 2006).

Durante o período seco, o entendimento das limitações nutricionais para os bovinos é o primeiro passo para tomada de atitudes que possibilitem o melhor aproveitamento da pastagem, como diferimento das mesmas, que consiste no isolamento de áreas, permitindo o acúmulo de pastagens para época seca (Paulino et al., 2004; Paulino et al., 2006), correção dos nutrientes deficientes com suplementação, entre outras tecnologias, o que possibilita melhores índices produtivos da bovinocultura (Casagrande et al., 2013).

A incorporação de programas de suplementação para animais em pastejo demonstra ser uma excelente alternativa para o provimento de recursos suplementares, uma vez que visa à redução e/ou eliminação de barreiras nutricionais e metabólicas, melhorando a produção animal (Detmann et al., 2014).

Na produção de bovinos, o manejo nutricional constitui um dos principais fatores a ser considerado, uma vez que a pastagem de clima tropical raramente constitui dieta balanceada para os ruminantes (Paulino et al., 2014; Detmann et al., 2014). Dietas com balanceamento proteico incorreto, normalmente geram grandes perdas de nitrogênio pela urina (Pereira, 2009), sendo importante sua observação, considerando que este é o nutriente/elemento mais caro na alimentação animal (Paulino et al., 2001; Valadares Filho et al., 2006; Pereira, 2009, Alves et al., 2009). Além disso, a maior parte dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes é proveniente da proteína microbiana sintetizada no rúmen, que atende de 50 a 100% das exigências dietéticas de proteína metabolizável para bovinos de corte (NRC, 1996).

No entanto, mesmo com o balanceamento das dietas, podem ocorrer perdas e desbalanceamento dos nutrientes ingeridos, bem como de resultados obtidos, isso porque o consumo voluntário de alimentos, em quantidades suficientes para atender os requerimentos de manutenção e produção é que vai determinar as perdas e os resultados de

desempenho animal, pois a regulação envolve mecanismos hormonais e neurais que ainda não estão totalmente esclarecidos (Silva, 2011), ainda mais quando se refere a animais suplementados a pasto, considerando que há efeito associativo suplemento-pasto-consumo de alimento pelo animal (Paulino et al., 2004; Paulino et al., 2006), podendo levar a diminuição no consumo de forragem (Reis et al., 2009).

Outro ponto que interfere na ingestão de alimentos está ligado diretamente aos constituintes do suplemento. Devido ao grande custo no transporte, mão de obra para fornecimento no cocho com animais a pasto, surge a formulação de suplementos considerados de autorregulação no consumo, onde a utilização de altos níveis de ureia e sal permitem ao animal atender sua demanda nutricional proveniente da suplementação juntamente com o pastejo, minimizando a dependência do suplemento pelos animais, sincronizando energia-proteína, equilíbrio do pH e amônia no rúmen, entre outros (Paulino et al., 2001; Valadares Filho et al., 2004).

A suplementação proteica com alta degradabilidade ruminal, é amplamente utilizada na correção de dietas desbalanceadas, considerando que esta causa atendimento quase que imediato dos requerimentos de amônia para os microrganismos poderem se desenvolver e manter sua atividade funcional, aumentando assim a digestão da forragem, o que implica em maior taxa de renovação do conteúdo presente no rúmen, levando a um aumento no consumo e maior conversão em produto animal (Moraes, 2003).

A fonte de proteína que possui maior degradabilidade, mais utilizada e barata no mercado é a ureia, que sendo associada a misturas minerais e grãos, possibilita redução na deficiência proteica dos ruminantes (Valadares Filho et al., 2004).

O nitrogênio (N) amoniacal no ambiente ruminal é um fator primordial para que os microrganismos se desenvolvam, especialmente os celulolíticos, que fazem uso prioritário da amônia para seu crescimento (Russell et al., 1992), porém quando há maior formação de amônia excedendo a capacidade de assimilação desta e dos aminoácidos pelos microrganismos, há elevação de sua concentração ruminal, que por sua vez é absorvida pela parede ruminal (Nolan, 1993), levada pela corrente sanguínea ao fígado onde ocorre formação de ureia (Harmeyer & Martens, 1980) que pode voltar ao rúmen por meio da saliva ou epitélio ruminal, ou ser eliminada na urina. Uma vez estando em grande concentração no rúmen, esta é desviada para os rins o que resulta em maior perda de N ureico pela urina (Russell et al., 1992).

Como existe relação positiva entre a degradação da proteína da dieta, produção de amônia ruminal, concentração sanguínea e perdas urinárias de compostos nitrogenados na forma de ureia, esta pode ser utilizada como um parâmetro na mensuração do balanço de N dos animais (Pereira, 2010).

O objetivo básico da nutrição de ruminantes é maximizar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado, em virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos, aumentando assim a eficiência produtiva (Valadares Filho & Valadares, 2001).

Os métodos mais utilizados para mensurar a produção de compostos nitrogenados de origem microbiana incluem o uso de indicadores internos como: bases de purinas, o ácido 2,6-diaminopimélico (DAPA), D-alanina, também através dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), além de marcadores como o isótopo estável ^{15}N e compostos radioativos como o ^{35}S e ^{32}P (Broderick & Merchen, 1992; Chen & Gomes, 1992; Chizzotti et al., 2008).

Devido ao fato da grande maioria dos métodos necessitarem de animais fistulados ou serem muito trabalhosos há a necessidade da geração de técnicas menos invasivas para quantificar a síntese de proteína microbiana. Ao longo dos últimos anos, tem sido demonstrado que coletas de urina têm grande aplicação na quantificação da proteína microbiana através da excreção urinária de derivados de purinas (DP) (Perez et al., 1996; Pereira, 2009).

As pesquisas têm confirmado a relação entre produção de proteína microbiana e excreção de DP na urina. Para o estabelecimento desta relação, assume-se que os ácidos nucleicos presentes no duodeno são de origem predominantemente microbiana e que, após a digestão intestinal, as bases púricas, adenina e guanina, são absorvidas, catabolizadas e excretadas na urina como hipoxantina, xantina, ácido úrico e, principalmente, alantoína (Perez et al., 1996).

Em bovinos, a excreção é quase que em sua totalidade na forma de alantoína e ácido úrico, devido à grande atividade da enzima xantina oxidase que transforma xantina e hipoxantina em ácido úrico em nível sanguíneo e tecidual antes da sua excreção, e pela ação da enzima uricase que converte ácido úrico em alantoína (Chen & Gomes, 1992).

Em vários estudos confirmou-se a relação direta entre produção de proteína microbiana e excreção de DP na urina. Rennó et al. (2000), trabalhando com bovinos fistulados, observaram que não houve diferença entre a produção de proteína

microbiana quantificada pelo método das purinas no abomaso e pela excreção urinária de DP. Vagnoni et al. (1997) e Johnson et al. (1998) concluíram que a excreção urinária de DP apresentou correlação positiva com o fluxo de N microbiano no abomaso.

A excreção de DP está diretamente relacionada com a absorção de purinas (Chen & Gomes, 1992), e pode ser utilizada uma vez que a excreção endógena de DP e a relação quantitativa entre a excreção urinária de DP e a absorção de purinas tenham sido previamente determinadas (Verbic et al., 1990; Orellana Boero et al., 2001; Barbosa et al., 2011).

Para a quantificação da excreção dos DP há necessidade do conhecimento do volume urinário total, sendo obtido por meio da coleta total de urina, técnica laboriosa como rotina experimental. Chen & Gomes (1992) relataram que, para reduzir erros atribuídos a variações na produção urinária, as coletas de urina deveriam ser realizadas durante pelo menos cinco dias. Ressalta-se que, com um período de coleta prolongado é possível que se gere desconforto e que aumente o risco de infecções urogenitais nas fêmeas.

Experimentos realizaram coleta total de urina em fêmeas com sondas, no entanto, esses estudos realizados (Susmel et al., 1994; Valadares et al., 1997; Vagnoni et al., 1997; Pereira, 2009) foram conduzidos em sistema de confinamento. Vale salientar que há inexistência de dados com coleta total de urina em animais em pastejo.

Outra maneira seria coletar uma amostra isolada de urina, denominada amostra *spot* de urina, que utiliza a creatinina como indicador do volume urinário, considerando que sua excreção é constante (influenciada apenas pelo peso do animal, não sofrendo interferência pelos teores dos diferentes nutrientes da dieta), onde o volume urinário é obtido pela divisão da excreção diária deste composto pela sua concentração na amostra (Valadares et al., 1999). A utilização da amostra *spot* se baseia na relativa constância da excreção de creatinina por unidade de massa muscular.

A creatinina é uma substância formada nos músculos pela remoção não enzimática de água do fosfato de creatina a qual se origina do metabolismo do tecido muscular (Harper et al., 1982), estando presente no sangue não é mais utilizada e é excretada através da urina, possuindo degradação diária constante, cerca de 2% do total de creatina presente no músculo (Silva et al., 2012).

Uma vez que a creatinina sofre influência apenas da musculabilidade do animal, apresentando diferença apenas quando expressa em peso vivo, esta tem sido avaliada e validada como indicador interno do volume urinário, podendo-se assim realizar a coleta

spot, conseguindo-se assim minimizar o desconforto e facilitando a coleta, principalmente em animais mantidos a pasto (Chizzotti et al., 2008).

Resultados de trabalhos em confinamento têm validado a creatinina como indicador da produção urinária diária (Valadares et al., 1999; Rennó et al., 2000; Oliveira et al., 2001; Pereira, 2009).

Pereira (2009) avaliou o efeito da hora da coleta de urina sobre a relação derivados de purinas:creatinina (DP:C), em novilhas Nelore em confinamento, de duas em duas horas (com dois dias de coleta) e não encontrou diferença significativa do horário de coleta sobre a relação DP:C. No entanto, quando avaliou o efeito da hora da coleta de urina sobre a relação ureia:creatinina (U:C) e sobre a relação N total:creatinina (NT:C), encontrou diferença nos horários da alimentação dos animais e estimou matematicamente que as coletas efetuadas pela manhã e tarde (08h00 e 16h00), estimariam adequadamente as excreções de compostos nitrogenados, ou seja, nos períodos imediatamente após as alimentações.

No entanto, os dados existentes sobre o horário da coleta de urina, relação DP:C, NU:C e NT:C são provenientes de animais mantidos em sistema de confinamento, não havendo dados para animais a pasto, necessitando confirmar a ausência do efeito da hora de coleta sobre a relação DP:C e identificar o (s) melhor (es) horário (s) para realização de coleta *spot* de urina para quantificar a relação U:C e NT:C.

Logo, é necessária a geração de tecnologias que permitam a estimação do volume urinário de animais em pastejo, eliminando a necessidade de se fazer a coleta total de urina, permitindo assim a utilização desta técnica para a quantificação da produção microbiana ruminal e excreção de compostos nitrogenados em animais em pastejo.

Referências Bibliográficas

- ABIEC. 2011. Associação brasileira das indústrias exportadoras de carne. Estatística: volume das exportações entre janeiro e dezembro. <http://abiec.com.br/download/stat-balanço.PDF>. (Accessed 17 October 2013.)
- ABIEC. 2013. Associação brasileira das indústrias exportadoras de carne. Estatística: volume das exportações entre janeiro e dezembro. <http://abiec.com.br/download/stat-balanço.PDF>. (Accessed 05 October 2013.)
- Alves, T. C., R. Franzolin, P. H. M. Rodrigues, and A. C. Alves. 2009. Efeitos de dietas com níveis crescentes de milho no metabolismo ruminal de energia e proteína em bubalinos. *Rev. Bras. Zootec.* 38:2001-2006.
- Arrigoni, M. B., C. L. Martins, and R. S. Barducci. 2012. Fatores zootécnicos que impactam a qualidade de carne e suas interações com nichos diferenciados de mercado. In: Proc. 8th. Symposium of beff cattle production. Viçosa, Brazil. p. 213.
- 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.
- Barbosa, F. A., R. C. Souza, D. C. Abreu, V. J. Andrade, and J. M. Leão. 2012. Gerência e competitividade na bovinocultura de corte. In: Proc. 8th. Symposium of beff cattle production. Viçosa, Brazil. p. 159.
- Broderick, G. A., and N. R. Merchen. 1992. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. *J. Dairy Sci.* 75:2618-2632.
- Casagrande, D. R., M. H. MORETTI, and R. A. REIS. 2013. Estratégias de suplementação de bovinos de corte e seus efeitos sobre a eficiência da terminação. In: Proc. 8th Symposium of beff cattle production. Lavras, Brazil. p. 59.
- CEPEA/ESALQ – Centro de estudos avançados em economia aplicada da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. <http://cepea.esalq.usp.br>. (Accessed 22 may 2014.)
- Chen, X. B., and M. J. Gomes. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivates – on overview of technical details. Buscksburnd: Rowett Research Institute. International Feed Resources Unit. (Occasional publication).
- Chizzotti, M. L. 2004. Avaliação da casca de algodão para novilhas de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras. Master Diss. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Chizzotti, M. L., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares, F. H. M. Chizzotti, M. I. Marcondes, and M. A. Fonseca. 2007. Consumo, digestibilidade e excreção de

úrea e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. *Rev. Bras. Zootec.* 36:138-146.

- Chizzotti, M. L., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares, F. H. M. Chizzotti, and L. O. Tedeschi. 2008. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Liv. Sci.* 113:218-225.
- Detmann, E., M. F. Paulino, J. T. Zervoudakis, S. C. Valadares Filho, R. F. Euclides, R. P. Lana, and D. S. Queiroz. 2001. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. *Rev. Bras. Zootec.* 30:1600-1609.
- Detmann, E., M. A. Souza, S. C. Valadares Filho, A. C. Queiroz, T. T. Berchielli, E. O. S. Saliba, L. S. Cabral, D. S. Pina, M. M. Ladeira, and J. A. G. Azevedo. 2012. Métodos para análise de alimentos – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Ciência Animal, INCT-CA. Universidade Federal de Viçosa, Visoça, MG. p. 214.
- Detmann, E., and S. C. Valadares Filho. 2010. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 64:980-984.
- Detmann, E., M. F. Paulino, S. C. Valadares Filho, E. D. Batista, and L. M. A. Rufino. 2014. Aspectos nutricionais aplicados a bovinos em pastejo nos trópicos. In: *Proc. 9th Symposium of beff cattle production*. Viçosa, Brazil. p. 239.
- Harmeyer, J., and H. Martens. 1980. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. *J. Dairy Sci.* 63:1707-1728.
- Harper, H. A., V. W. Rodwell,, and P. A. Mayes. 1982. *Manual de química fisiológica*. 5th ed. Atheneu, São Paulo, SP.
- Johnson, L. M., J. H. Harrison, and R. E. Riley. 1998. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. *J. Dairy Sci.* 81:2408-2420.
- Moraes, E. H. B. K. 2003. Suplementos múltiplos para recria e terminação de novilhos mestiços em pastejo durante os períodos de seca e transição seca-águas. Master Diss. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- NRC. 1996. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7th ed. National Acad. Press, Washignton, D.C.
- Nolan, J.V. 1993. Nitrogen kinetics. In: J. M. Forbes, and J. France, editor, *Quantitative aspects of ruminant digestion an metabolism*. p.123-143.
- Oliveira, A.S., R. F. D. Valadares, S.C. Valadares Filho, P. R. Cecon, L. N. Rennó, A. C. Queiroz, and M. L. Chizzotti. 2001. Produção de proteína microbiana e estimativa das excreções de derivados de purinas e de ureia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. *Rev. Bras. Zootec.* 30:1621-1629.

- Orellana Boero, P., J. Balcells, S. M. Martín-Orúe, J. B. Liang, and J. A. Guada. 2001. Excretion of derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. *Liv. Sci.* 68:243-250.
- Paulino, M. F., E., Detmann, and J. T. Zervoudakis. 2001. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastejo. In: *Proc. 2th Symposium of beff cattle production*. Viçosa, Brazil. p. 187.
- Paulino, M. F., D. M. Figueiredo, E. H. B. K. Moraes, M. O. Porto, M. F. L. Sales, T. S. Acedo, S. D. J. Villela, and S. C. Valadares Filho. 2004. Suplementação de bovinos em pastagem: uma visão sistêmica. In: *Proc. 4th Symposium of beff cattle production*. Viçosa, Brazil. p. 93.
- Paulino, M. F., B. Zamperlini, D. M. Figueiredo, E. H. B. K. Moraes, H. J. Fernandes, M. O. Porto, M. F. L. Sales, M. L. Paixão, T. S. Acedo, E. Detmann, and S. C. Valadares Filho. 2006. Bovinocultura de precisão em pastagens. In: *Proc. 5th Symposium of beff cattle production*. Viçosa, Brazil. p. 361.
- Paulino, M. F.; E. Detmann, and S. C. Valadares Filho. 2008. Bovinocultura funcional nos trópicos. In: *Proc. 6th Symposium of beff cattle production*. Viçosa, Brazil. p. 275.
- Paulino, M. F., E. Detmann, A. G. Silva, D. M. Almeida, D. E. C. Márquez, D. P. S. Moreno, F. H. Moura, J. E. G. Cardenas, J. A. C. Lima, L. S. Martins, M. R. Manso, R. E. M. Ortega, S. A. Lopes, and V. V. Carvalho. 2014. Bovinocultura otimizada. In: *Proc. 9th Symposium of beff cattle production*. Viçosa, Brazil. p. 139.
- Pereira, K. P. 2010. Metabolismo proteico e desempenho de caprinos na caatinga. PhD Diss. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.
- Pereira, V. S. A. 2009. 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. Master Diss. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Perez, J. F., J. Balcells, J. A. Guarda, and C. Castrillo. 1996. Determination of rumen microbial nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ^{15}N and purine bases as maskrs of microbial-nitrogen entering the duodenal. *Br J Nutr.* 75:699-709.
- Rennó, L. N., R. F. D. VALADARES, M. I. LEÃO, S. C. Valadares Filho, J. F. C. Silva, P. R. Cecon, H. L. C. Dias, M. A. L. Costa, and R. V. Oliveira. 2000. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhas. *Rev. Bras. Zootec.* 29:1223-1234.
- Reis, R. A., A. C. Ruggieri, D. R. Casagrande, and A. G. Páscoa. 2009. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo de pastagem. *Rev. Bras. Zootec* 38:147-159. (suppl.)

- Ribas, M. N., M. L. Chizzotti, F. S. Machado, and T. M. Felix. 2014. Instrumentos de precisão para suporte as atividades zootécnicas. In: Proc. 9th Symposium of beff cattle production. Viçosa, Brazil. p. 213.
- Russell, J. B., J. D. O'Connor, D. J. Fox, P. J. Van Soest, and C. J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I Ruminant fermentation. *J. Anim. Sci.* 70:3551-3561.
- Silva, J. F. C. 2011. Mecanismos reguladores de consume. In: T. T. Berchielli, A. V. Pires, S. G. Oliveira. editor, *Nutrição de Ruminantes*. 2th ed. Jaboticabal, SP. p. 61-82.
- Silva, L. F. C., S. C. Valadares Filho, M. L. Chizzotti, P. P. Rotta, L. F. Prados, R. F. D. Valadares, D. Zanetti, and J. M. S. Braga. 2012. Creatinine excretion and relationship with body weight of Nelore cattle. *Rev. Bras. Zootec.* 41:807-810.
- Susmel, P., B. Stefanon, E. Plazzotta, M. Spanghero, and C. R. Mills. 1994. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. *J. Agricultural Sci.* 123:257-266.
- Vagnoni, D. B., G.A. Broderick, M. K. Clayton, and R. D. Hatfield. 1997. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. *J. Dairy Sci.* 80:1695-1702.
- Valadares Filho, S. C., E. H. B. K. Moraes, K. A. Magalhães, M. L. Chizzotti, and M. F. Paulino. 2004. Alternativas para otimização da utilização de ureia para bovinos de corte. In: Proc. 4th Symposium of beff cattle production. Viçosa, Brazil. p. 313.
- Valadares Filho, S. C., and R. F. D. Valadares. 2001. Teores de proteína em dietas de vacas de leite. In: Proc. 2th International symposium of dairy cattle. Lavras, Brazil.
- Valadares Filho, S. C., P. V. R. Paulino, and K. A. Magalhães. 2006. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos – BR Corte. 1th ed. Viçosa, MG. p. 142.
- Valadares, R. F. D., G. A. Broderick, S. C. Valadares Filho, and M. K. Clayton. 1999. Effect of replacing alfafa silage with high misture on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivates. *J. Dairy Sci.* 82:2686-2696.
- Valadares, R. F. D., L. C. Gonçalves, N. M. Rodriguez, S. C. Valadares Filho, and I. B. Sampaio. 1997. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. *Rev. Bras. Zootec.* 26:1270-1278.
- Valadares Filho, S. C., L. H. P. Silva, P. D. B. Benedeti, P. A. S. Machado. 2014. Fundamentos tecnológicos associados aos diferentes modelos dietéticos para bovinos em confinamento, e uso do BR-CORTE 2.0 para formular dietas e

predizer o desempenho de bovinos. In: Proc. 9th Symposium of beef cattle production. Viçosa, Brazil. p. 165.

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 derivative excretion by steers. *J. Agricultural Sci.* 114:243-248.

Introdução

A baixa precipitação durante a época seca do ano gera diminuição na qualidade nutricional da forragem destinada ao pastejo, e reflete em decréscimo no teor de proteína bruta (PB) da gramínea. Essa restrita disponibilidade de PB, por sua vez, constitui entrave para o crescimento microbiano sobre os carboidratos fibrosos da forragem basal (Detmann et al., 2009), resultando em menor consumo do pasto e redução no desempenho animal. Sob tais condições, a realização da suplementação com compostos nitrogenados visa proporcionar incrementos na utilização da forragem por animais em pastejo (Detmann et al., 2014).

A maior parte dos aminoácidos absorvidos pelos ruminantes é proveniente da proteína microbiana sintetizada no rúmen, que atende de 50 a 100% das exigências dietéticas de proteína metabolizável para bovinos de corte (NRC, 1996). Desta forma, o objetivo básico da nutrição de ruminantes é aumentar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado, em virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos, aumentando assim a eficiência produtiva (Valadares Filho e Valadares, 2001).

As bases purinas, presentes nos microrganismos são catabolizadas e excretadas na urina como derivados de purinas (DP), principalmente alantoína e ácido úrico em bovinos (Chen & Gomes, 1992, Perez et al., 1996). Em vários estudos confirmou-se a relação direta entre produção de proteína microbiana e excreção de DP na urina. Rennó et al. (2000), trabalhando com bovinos fistulados, observaram que não houve diferença entre a produção de proteína microbiana quantificada pelo método das purinas no abomaso e pela excreção urinária de DP. Vagnoni et al. (1997) e Johnson et al. (1998) concluíram que a excreção urinária de DP apresentou correlação positiva com o fluxo de N microbiano no abomaso.

A excreção de DP está diretamente relacionada com a absorção de purinas (Chen & Gomes, 1992), podendo ser utilizada uma vez que a excreção endógena de DP e a relação quantitativa entre a excreção de DP e a absorção de purinas tenham sido previamente determinadas (Verbic et al., 1990; Orellana Boero et al., 2001; Barbosa et al., 2011).

Porém, para haver uma correta mensuração da excreção urinária de DP é necessário o conhecimento do volume urinário total. Para evitar erros atribuídos a variações na produção urinária, deve-se realizar as coletas de urina ao longo do período de cinco dias (Chen & Gomes, 1992).

Resultados de trabalhos em confinamento têm validado a creatinina (C) (composto oriundo da desfosforilação da fosfocreatina presente no músculo) como indicador da produção urinária diária, uma vez que este composto é degradado, não é mais utilizado pelo organismo, possuindo então liberação constante (Valadares et al., 1999; Rennó et al., 2000; Oliveira et al., 2001; Pereira, 2009).

Pereira (2009) avaliou o efeito da hora da coleta de urina sobre a relação derivados de purinas:creatinina (DP:C), em 15 novilhas Nelore, em confinamento, de duas em duas horas (com dois dias de coleta) e não encontrou diferença significativa do horário de coleta sobre a relação DP:C. No entanto, quando avaliou o efeito da hora da coleta de urina sobre a relação ureia:creatinina (U:C) e sobre a relação N total:creatinina (NT:C), encontrou diferença nos horários da alimentação dos animais e estimou matematicamente que as coletas efetuadas pela manhã e tarde (08h00 e 16h00), estimariam adequadamente as excreções de compostos nitrogenados, ou seja, nos períodos imediatamente após as alimentações.

No entanto, os dados existentes sobre o horário da coleta de urina, relação DP:C, U:C e NT:C são provenientes de animais mantidos em sistema de confinamento, não havendo dados para animais a pasto, necessitando confirmar a ausência do efeito da hora de coleta sobre a relação DP:C e identificar o (s) melhor (es) horário (s) para realização de uma única coleta de urina, chamada de coleta *spot* de urina para quantificar a relação U:C e NT:C, nesse sistema.

Desta maneira objetivou-se avaliar a excreção urinária dos derivados de purinas e de compostos nitrogenados em novilhas Nelore em pastejo, em diferentes dias e períodos dentro de dias.

Material e métodos

Animais, delineamento experimental e suplementos

O experimento foi conduzido no setor de Gado de Corte, pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, durante a época seca do ano, entre julho a setembro de 2013.

Foram utilizadas cinco novilhas Nelore com peso corporal médio inicial de 300 ± 15kg e 20 meses de idade. Todos os animais foram mantidos em piquetes individuais de aproximadamente meio hectare cada (totalizando cinco piquetes), com pastagem constituída de capim braquiária {*Uruçloa decumbens* (Stapf) R.D. Webster cv. Basilisk [syn. *Brachiaria decumbens* Stapf cv. Basilisk]}, dotados de bebedouros e comedouros cobertos.

Inicialmente todos os animais foram pesados, identificados e tratados contra endo e ectoparasitas. As fêmeas passaram por período de adaptação ao campo experimental, manejo de fornecimento do suplemento e condução ao tronco de contenção por 15 dias antes do início do período experimental.

Os tratamentos experimentais foram: sal mineral sendo fornecido na base de 60 gramas/dia (controle); concentrado com 20,31% de proteína bruta (PB) com base na matéria seca (MS) sendo oferecido (OF) em nível de 0,5% do peso corporal em jejum (PCJ): (OF5) e 1,0% do PCJ (OF10), e dois concentrados auto-reguladores (AR) de consumo um contendo 69,38% de PB com base na MS (20% de ureia e 20% sal) ofertado *ad libitum* (AR70), e outro contendo 39,73% de PB com base na MS sendo ofertado *ad libitum* (AR40).

Os suplementos foram definidos para representar aqueles normalmente utilizados na época seca do ano para bovinos de corte.

As proporções dos ingredientes no sal mineral, suplemento e a composição química da dieta e forragem podem ser vistas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1: Proporção dos ingredientes nos suplementos com base na matéria seca (MS) (%), por tratamento.

Ingredientes	Controle	OF5 e OF10	AR70	AR40
Milho moído	-	78,0	16,0	-
Farelo de soja	-	16,0	36,5	-
Farelo de trigo	-	-	-	84,0
Ureia/sulfato de amônia	-	2,0	20,0	10,0
Sal-mistura mineral	-	4,0	-	6,0
Sal comum	-	-	20,0	-
Mistura mineral ¹	100	-	7,5	-

¹Mistura Mineral: Fosfato bicálcico (50%), Sal comum (47,2%), Sulfato de zinco (1,5%), Sulfato de cobre (0,7%), Sulfato de Manganês (0,5%), Sulfato de cobalto (0,05%), Selenito de sódio (0,006) e Iodato de potássio (0,05%).

Os suplementos foram disponibilizados uma única vez ao dia, às 12 horas. O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino (5x5), com cinco animais, cinco períodos e cinco tratamentos. Cada um dos cinco períodos experimentais teve duração de 18 dias, sendo o primeiro dia de cada período experimental reservado para realização de jejum de 14h e pesagem, para ajustes na quantidade a ser fornecida; e os demais foram 12 de adaptação e 5 de coleta (fezes e urina).

Tabela 2: Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica, proteína bruta, fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDN indigestível (FDNi) dos concentrados e do capim braquiária com base na MS.

Item	Concentrados			Capim braquiária
	OF5 e OF10	AR70	AR40	
Matéria Seca	89,84	90,09	86,82	31,98 ± 6,70
Matéria Orgânica	94,73	78,7	90,18	92,56 ± 5,12
Proteína Bruta	20,31	69,38	39,73	7,31 ± 1,47
FDNcp	13,47	9,66	37,67	66,15 ± 1,99
CNF	65,39	36,13	49,93	22,51 ± 2,37
FDNi	2,25	3,61	13,89	24,58 ± 4,51

Após o primeiro dia, os animais foram alocados em piquetes nos diferentes tratamentos, visando à eliminação de possíveis efeitos de piquetes sobre os tratamentos (que também foram trocados) de forma a permitir que todos os animais passassem por todos os piquetes e por todos os tratamentos.

Procedimentos experimentais e amostragens

Foi realizada a simulação de pastejo em cada piquete no décimo segundo e décimo sétimo dias de cada período experimental para avaliação qualitativa do pasto, estimativa do consumo e dos coeficientes de digestibilidade. Essa amostra foi pesada e levada imediatamente à estufa com circulação forçada de ar (60°C) e moída em moinho de facas (1 e 2 mm).

No terceiro dia de cada período experimental foi realizada coleta de pasto para quantificação da disponibilidade total de matéria seca e de matéria seca potencialmente digestível (MSpd), através do corte rente ao solo de quatro áreas delimitadas por um quadrado metálico de 0,5 x 0,5 m, selecionados aleatoriamente em cada piquete experimental.

Para estimar a excreção de matéria seca fecal, foi realizado o fornecimento de dióxido de titânio aos animais na quantidade diária de 15 g, entre o oitavo e décimo sétimo dia de cada período experimental. Os animais foram conduzidos ao tronco de contenção onde receberam o indicador que foi acondicionado em cartuchos de papel e introduzido com auxílio de sonda metálica via esôfago em uma única dose às 12:00 horas. Para estimar o consumo de MS de pasto foi utilizada a FDNi como indicador interno (Detmann et al., 2001).

A coleta de fezes foi realizada com amostragens a cada quatro horas (4h00; 8h00, 12h00; 16h00; 20h00 e 24h00) entre o 13º e 17º dia de cada período experimental.

A coleta total de urina foi realizada entre o 13º e 17º dias de cada período experimental, nos mesmos horários das coletas de fezes, e para tal foi utilizada a sonda de Folley nº 26, duas vias, com balão de 50 mL. Na extremidade livre da sonda foi acoplada uma mangueira de polietileno condutora de urina até uma bolsa coletora de urina por sistema fechado (bolsa de polietileno) com capacidade de dois litros, que foi fixada com cordas em uma bolsa confeccionada com tecido de algodão resistente, ao pescoço do animal, na região ventral, acima da maçã de peito. Para esvaziamento da bolsa, os animais foram conduzidos ao tronco de contenção a cada duas horas durante o intervalo de 8 da manhã às 20 horas, e a cada 4 horas no intervalo de 20 horas às 8 horas da manhã. A sonda foi colocada em cada animal a partir das 5 horas da manhã do décimo terceiro dia, iniciando a coleta de urina às 8 horas, em cada período experimental.

A amostragem da urina foi realizada a cada quatro horas. A urina proveniente do esvaziamento da bolsa coletora a cada duas horas (foi armazenada em frascos e colocada em freezer para conservação), sendo homogeneizadas no momento da amostragem, medindo-se o volume, sendo retiradas duas alíquotas: uma de 50 mL e outra de 10 mL que foi diluída em 40 mL de H₂SO₄ 0,036 N (para evitar precipitação do ácido úrico). Ambas amostras tiveram o pH corrigido para valor menor que 3, com adição de ácido sulfúrico, para impedir o desenvolvimento de microrganismos e então foram armazenadas a -20°C para posteriores análises. A amostra de urina sem diluição foi utilizada para quantificar o nitrogênio total (Nt), e a amostra diluída para quantificação das concentrações de creatinina (C); ureia (U); e derivados de purinas (alantoína: AL e ácido úrico: AU).

A coleta de sangue foi realizada no 12º dia do período experimental, quatro horas após o fornecimento do suplemento, por punção da veia jugular, usando tubos com gel separador. Estas amostras foram imediatamente centrifugadas a 3000 x g durante 15 minutos e então o soro foi acondicionado em recipientes identificados e armazenados a -20°C para posterior análise de ureia.

Análises laboratoriais

Nas amostras de forragem e dos suplementos foram quantificados os teores de matéria seca (MS, método INCT-CA G-003/1), proteína bruta (PB, método INCT-CA

N-001/1), material mineral (MM, método INCT-CA M-001/1), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp, método INCT-CA F-002/1), fibra indigestível em detergente neutro (FDNi, método INCT-CA F-009/1), obtida pela incubação de sacos F57 (Ankom®), seguindo recomendações de Detmann et al. (2012), no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

A quantificação dos carboidratos não fibrosos (CNF) foi realizada de acordo com Detmann & Valadares Filho (2010):

$$\text{CNF} = 100 - [(\% \text{PB} - \% \text{PB da ureia} + \% \text{ de ureia}) + \% \text{ FDNcp} + \% \text{EE} + \% \text{MM}].$$

Nas amostras de capim braquiária referentes à disponibilidade foram quantificados os teores de MS; FDN e FDNi, conforme descrito anteriormente.

A MS_{pd} foi estimada segundo Paulino et al. (2008), seguindo a seguinte equação: $\text{MS}_{pd} = 0,98 \times (100 - \text{FDN}) + (\text{FDN} - \text{FDNi})$.

As amostras fecais foram identificadas por animal, dia e hora, pesadas e secas em estufa com circulação forçada de ar (60°C), sendo então elaborada uma amostra composta por animal em cada período experimental. Posteriormente estas amostras foram moídas a 2 mm para avaliação da FNDi e a 1 mm para quantificação da MS, PB, MM, EE, FDN seguindo as recomendações descritas por Detmann et al. (2012),

O teor de NT na urina foi estimado pelo método de Kjeldahl (Detmann et al., 2012, método INCT-CA N-001/1).

A quantificação de creatinina, ácido úrico e ureia (urina e soro) foram, respectivamente, por métodos cinético colorimétrico, enzimático colorimétrico e por cinético de tempo fixo, utilizando-se o equipamento automático para bioquímica, marca Mindray, modelo: BS200E, no Laboratório de Fisiologia e Reprodução Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. A análise de alantóina foi realizada pelo método colorimétrico descrito por Chen & Gomes (1992), no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Nas amostras de urina foram calculadas as relações dos derivados de purinas (DP) alantóina (AL) e ácido úrico (AU), nitrogênio ureico e compostos nitrogenados totais com a creatinina (AL:C, AU:C, NU:C, NT:C, respectivamente) por período de quatro horas. As excreções de C, U, NT e DP na urina, foram obtidas, multiplicando-se o volume urinário do horário da coleta por suas respectivas concentrações expressos em

mmol. O balanço de compostos nitrogenados foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido e o total excretado nas fezes e urina.

As purinas absorvidas (PA) (Y, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (X, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$PA = \frac{DP - 0,301 \times PC^{0,75}}{0,80}$$

em que: 0,80 é a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas e $0,301 \times PC^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção das purinas (Barbosa et al., 2011).

A síntese de compostos nitrogenados microbianos no rúmen (N_{mic} , g/dia) foi calculada em função das PA (mmol/dia), de acordo com Barbosa et al.(2011):

$$N_{mic} = \frac{70 \times PA}{0,93 \times 0,137 \times 1000}$$

em que: 70 é o conteúdo de N de purinas (mg N/mol); 0,137, a relação N purinas:N total nas bactérias; e 0,93, a digestibilidade das purinas microbianas.

Análise estatística

Os procedimentos estatísticos foram realizados por intermédio do programa SAS (Statistical Analysis System, versão 9.1), utilizando-se os procedimentos MIXED, com utilização do teste de Fisher (diferença mínima significativa) adotando 5% como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I; com análise de medidas repetidas no tempo (Kaps & Lamberson, 2004).

Resultados e Discussão

Flutuações sazonais na produção de forragem acarretam em variações quanti e qualitativas destas ao longo do ano, sendo que para um ótimo desempenho animal é necessário que este possa optar por material de maior valor nutritivo (Hogson, 1990; Euclides et al. 2001). Para Paulino et al. (2008), o conceito de MSpd leva em consideração a integração entre qualidade e quantidade de material forrageiro disponível para consumo animal independente da época do ano.

Observou-se disponibilidade de MSpd de 1357,02 kg; 1256,88 kg, 1095,96 kg, 996,84 kg e 908,94 kg para o primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto períodos experimentais, respectivamente, possibilitando média de 1123,13 kg, resultando no fornecimento médio de 215 gMSpd/kg de peso corporal (PC)/dia, ficando acima dos valores recomendados por Paulino et al. (2004), que preconiza valores entre 40 e 50 gMSpd/kg PC para um ótimo desempenho animal.

As médias de consumo de MS (CMS), CMS do pasto (MSp), consumo de matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), fibra indigestível em detergente neutro (FDNi), CMO digerida (CMOdig), nutrientes digestíveis totais (NDT), CFDNcp digerida (CFDNcpdig) em quilos (kg) e suas relações grama (g) por kg de peso corporal (PC) encontram-se na Tabela 3. O consumo de MS foi superior ($P < 0,05$) para o tratamento OF10 em relação aos tratamentos AR70, AR40 e controle, mas não diferiu ($P > 0,05$) do tratamento OF5, devido à maior disponibilidade de suplemento fornecido ao animal e a ausência de efeitos de autorregulação de consumo, enquanto os tratamentos AR70 e AR40 possuíam sal branco, ureia e farelo de trigo, componentes limitantes do consumo. O consumo de MO foi superior ($P < 0,05$) para o tratamento OF10, assim como o consumo de MS, não havendo diferenças entre os demais tratamentos.

O consumo de MSp não foi afetado ($P > 0,05$) com o fornecimento de suplemento, assim como também não se observou diferença ($P > 0,05$) para os consumos de FDNcp, FDNi e FDNcpdig. A suplementação proteica, segundo Costa et al. (2008), possibilita maior consumo de MS, pois permite maior disponibilidade de N amoniacal, para os microrganismos; contudo a ausência de efeito sobre essa variável pode ser explicada em função do teor de PB do pasto (7,31%), valor semelhante ao recomendado por Lazzarini et al. (2009), que é de 7%, valor mínimo para manter o crescimento microbiano e também pela alta disponibilidade de pasto (gMSpd/kgPC), outro fator importante no consumo de forragem (Silva e Pedreira, 1997).

O consumo de MSs diferiu ($P < 0,05$) entre os tratamentos, apresentado maior média para o tratamento OF10, seguida pelos tratamentos OF5, AR40 e AR70, efeito causado pela maior quantidade de concentrado ofertada para o OF10, seguida pelo OF5, que não possuíam características limitantes do consumo. Os tratamentos AR40 e AR70 que possuíam características autorregulatórias de consumo demonstraram as menores médias, demonstrando que a utilização de farelo de trigo (limitação pelo enchimento) e sal mais ureia (limitação fisiológica) possibilitaram menor ingestão.

Tabela 3: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades (Valor P) para os consumos de matéria seca total (MS), MS do pasto (MSp), MS do suplemento (MSs), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDN indigestível (FDNi), MO digerida (MOdig), nutrientes digestíveis totais (NDT), FDNcp digerida (FDNcpdig) em função dos tratamentos.

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor P
	Controle	OF5	OF10	AR70	AR40		
Consumos (kg/dia)							
MS	5,05b	5,70ab	6,73a	5,52b	5,06b	0,462	0,047
MSp	4,99	4,25	4,09	5,22	4,09	0,461	0,101
MSs	-	1,46b	2,64a	0,30d	0,97c	0,158	<0,001
MO	4,64b	5,47b	6,58a	5,07b	4,78b	0,428	0,014
PB	0,424c	0,693b	1,007a	0,725b	0,830b	0,0804	<0,001
FDNcp	3,63	3,29	3,33	3,79	3,41	0,316	0,645
FDNi	1,10	0,98	0,93	1,15	1,08	0,091	0,185
MOdig	2,73	3,68	4,55	3,55	3,44	0,400	0,068
NDT	2,77	3,63	4,37	3,41	3,25	0,413	0,252
MOdig/NDT	0,98	1,01	1,04	1,04	1,06	0,015	0,437
FDNcpdig	2,09	1,93	1,97	2,28	2,09	0,300	0,708
Consumos (g/kg PC)							
MS	15,4	17,5	20,7	17,0	15,7	1,63	0,088
MSp	15,4	13,1	12,6	16,0	12,7	1,63	0,174
MO	13,2b	16,8ab	20,2a	15,6b	14,8b	1,51	0,029
FDNcp	11,1	10,1	10,3	11,7	10,6	1,13	0,752
FDNi	3,34	2,98	2,86	3,55	3,29	0,283	0,337

¹Médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,05).

O fornecimento de suplemento proporcionou variação no consumo de PB, sendo o suplemento OF10, o que apresentou maior consumo de PB. O menor CPB (P<0,05) foi obtido pelo tratamento controle devido à ausência de suplementação de compostos nitrogenados. Os consumos de MODig, NDT e relação entre MODig/NDT não diferiram (P>0,05) entre os tratamentos.

Os consumos de MS, MSp, FDNcp e FDNi, quando avaliados em g/kg PC, não foram influenciadas pelo fornecimento de concentrado. O consumo de MO, em g/kgPC, apresentou os maiores valores para os dois tratamentos contendo 20% de PB, em função da quantidade destes, sendo semelhantes entre as duas formas de fornecimento deste proteinado OF10 e OF5, no entanto, este último não diferiu entre os tratamentos de autorregulação (AR70 e AR40) e do controle. Os animais, em cada tratamento,

apresentaram a seguinte variação de peso corporal: $2,8 \pm 6,14$ kg; $11,7 \pm 1,8$ kg; $8,6 \pm 4,67$ kg; $5,0 \pm 9,44$ kg; e $-1,2 \pm 2,31$ kg, respectivamente para os tratamentos controle, OF5, OF10, AR70 e AR40.

Observou-se efeito significativo ($P < 0,05$) da suplementação nos valores de digestibilidade da MO (Tabela 4), sendo o tratamento OF10 o de maior valor, em função de que alimentos concentrados apresentam maiores coeficientes de digestibilidade quando comparados com o pasto (Paulino et al., 2008), não havendo diferença entre os demais tratamentos ($P > 0,05$), devido à menor ingestão de suplemento.

O fornecimento de suplemento aumentou a digestibilidade da PB, não diferindo entre os tratamentos OF10 e AR40, causado pela maior quantidade fornecida e pela maior quantidade de ureia presente na formulação deste suplemento, respectivamente. O tratamento AR40 não diferiu ($P > 0,05$) dos demais tratamentos, uma vez que observou-se semelhantes consumos de PB total, com exceção do tratamento controle que apresentou a menor digestibilidade da PB ($P < 0,05$). Geralmente quanto maior o consumo de PB, maior a digestibilidade por causa da diluição das perdas endógenas.

Tabela 4: Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidades (Valor P) para os coeficientes de digestibilidade da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp) e teor de matéria orgânica (MOD), em gramas por kg de matéria seca (g/kgMS) em função dos tratamentos.

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor P
	Controle	OF5	OF10	AR70	AR40		
MO	0,541b	0,613b	0,673a	0,577b	0,559b	0,0339	0,002
PB	0,474c	0,624b	0,692a	0,657b	0,670ab	0,0340	<0,001
FDNcp	0,570	0,577	0,582	0,590	0,606	0,0387	0,802
MOD	496c	588b	658a	522c	529c	31,3	<0,001

¹Médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$).

Não houve diferença para os coeficientes de digestibilidade da FDNcp ($P > 0,05$).

A MOD foi afetada ($p < 0,05$) pela suplementação concentrada, apresentando maiores valores para o suplemento com 20% PB fornecido nas duas formas (10 e 5g/kgPC), embora observa-se diferença entre eles, causada pela quantidade fornecida. Os demais tratamentos não diferiram entre si ($P > 0,05$), devido às características autorregulatórias de consumo (AR70 e AR40), causado pelos constituintes do

suplemento presente na sua formulação, o que diminui seu consumo (Paulino et al., 2001; Paulino et al., 2004).

Os valores de P (probabilidade) para volume urinário, excreção de creatinina (C), alantoina (AL), ácido úrico (AU), nitrogênio total (Nt) e nitrogênio ureico (NU), e relações da AL:C, AU:C, Nt:C, NU:C e NU:Nt das amostras obtidas a cada quatro horas encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5: Valores de P (probabilidade) e desvio padrão (s) para volume urinário em litros (L), excreções de creatinina (C), alantoina (AL), ácido úrico (AU), nitrogênio total (Nt), nitrogênio ureico (NU), relações da AL, AU, Nt, NU com a C, e a relação NU:Nt, para as amostras de urina obtidas a cada quatro horas (4h), em função das variáveis analisadas.

Item	Efeito ¹							s
	T	D	P	TxD	TxP	DxP	TxDxP	
Volume urinário								
Volume (L)/4h	0,539	0,103	<0,001	0,325	0,086	0,911	>0,999	0,521
Excreções								
C (mmol/kgPC)/4h	0,130	0,771	0,085	0,784	0,817	0,423	0,494	0,004
AL (mmol)/4h	0,214	0,183	0,456	0,443	0,351	0,315	0,998	5,163
AU (mmol)/4h	0,319	0,485	0,781	0,483	0,834	0,583	0,880	4,619
Nt (mmol)/4h	0,004	0,223	<0,001	0,166	<0,001	0,735	0,966	15,933
NU (mmol)/4h	0,016	0,321	<0,001	0,333	0,009	0,337	0,882	14,324
Relações								
Al:C(mmol)/4h	0,273	0,547	0,449	0,425	0,097	0,456	0,994	0,437
AU:C (mmol)/4h	0,263	0,152	0,563	0,301	0,236	0,26	0,986	0,040
Nt:C (mmol)/4h	0,002	0,234	<0,001	0,241	<0,001	0,326	0,95	12,888
NU:C(mmol)/4h	0,011	0,826	<0,001	0,415	0,015	0,376	0,863	11,581
NU:Nt (mmol)/4h	0,178	0,512	0,012	0,528	0,123	0,576	0,693	0,159

¹ Tratamento (T); dia (D); período (P) (0h00-4h00; 4h00-8h00; 8h00-12h00; 12h00-16h00; 16h00-20h00; 20h00-24h00); e suas interações: TxD; TxP; DxP; e TxDxP.

Não houve efeito de tratamento, de dia e suas interações ($P > 0,05$) para volume urinário, que foi afetado ($P < 0,05$) somente pelos períodos de coleta (Figura 1), com volume semelhantes nos períodos compreendidos entre às 12h00 às 20h00, seguido pelo período entre 20h00-24h00, não diferindo entre os demais horários, isso causado pela maior ingestão de MS e de água, nos horários da manhã e final da tarde, horários mais amenos para pastejo (Zanine et al., 2007; Mendes et al., 2012). Contudo, essa diferença de volume não interferiu na excreção de creatinina, que também não foi afetada pelos tratamentos, dia e períodos de coleta ($P > 0,05$). Não havendo variação entre dias de

coleta, permite-se afirmar que um único dia para coleta de urina para determinação do volume urinário a partir do uso da creatinina, é suficiente.

A excreção de creatinina média foi de $23,03 \pm 0,30$ ($22,73 - 23,33$) mg/kgPC, sendo média diária próxima a encontrada por Chizzotti et al. (2008) que foi de 24,04 mg/kgPC ao trabalhar com vacas lactantes. A ausência do efeito do período de coleta sobre a excreção diária de creatinina está de acordo com observações descritas por Valadares et al. (1997), que, em confinamento, não encontraram diferenças nas excreções de creatinina obtidas durante 12, 24, 48 ou 72 horas de coleta.

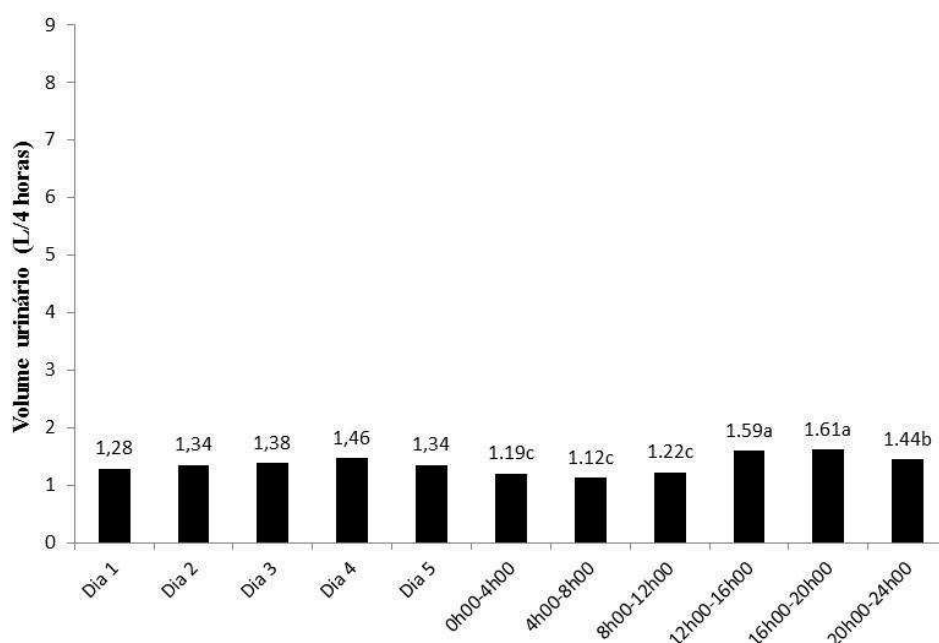


Figura 1 - Médias ajustadas para o volume urinário em função dos dias e dos períodos de coletas a cada quatro horas [médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$).]

Chizzotti et al. (2008) avaliando os tempos de coleta de 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 horas, também não encontraram diferença na excreção de creatinina expressa em mmol/24h, mmol/h, mmol/kg PC, mmol/kg PC^{0,75}, encontrando médias de 131,3; 5,45; 0,208 e 1,04, respectivamente. Desse modo, a excreção diária de creatinina sendo constante, permite que a coleta de 4 horas seja representativa do período de 24 horas, facilitando assim, a condução de experimentos com bovinos em pasto, uma vez que períodos de coletas menores são desejáveis, pois diminui custo operacional, desconforto dos animais e tempo experimental.

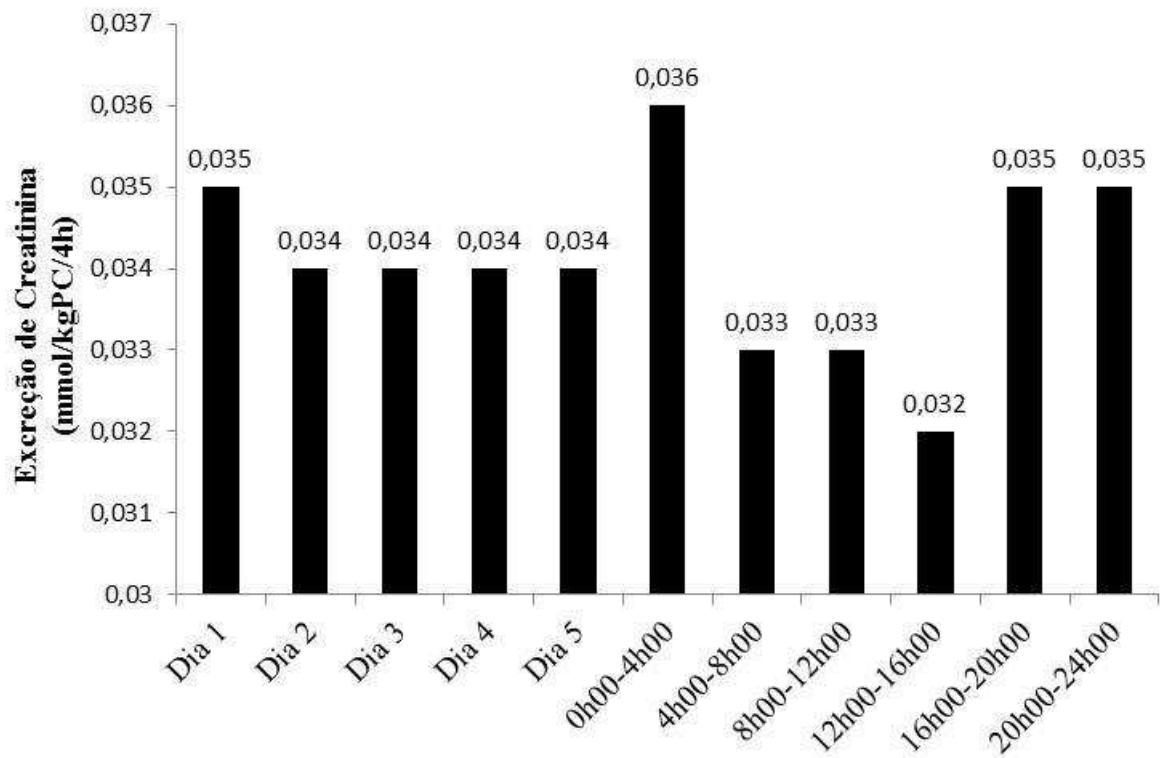


Figura 2 - Médias ajustadas para a excreção de creatinina em função dos dias e dos períodos de coletas a cada quatro horas [médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$)].

As excreções de AL e AU são demonstradas nas Figuras 3 e 4 e as de Nt e NU nas Tabelas 6 e 7, respectivamente. As excreções de AL e AU não demonstraram efeito de tratamento, de dia ou período de coleta ($P > 0,05$).

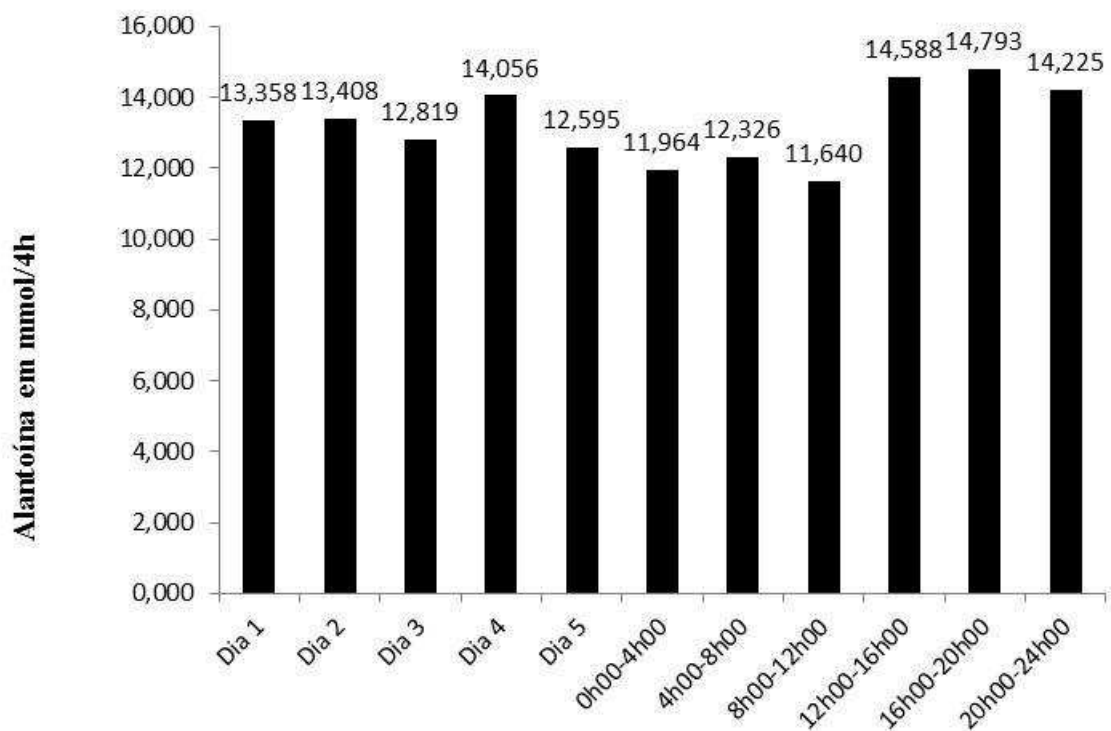


Figura 3 - Médias ajustadas para a excreção de alantoína em função dos dias e dos períodos de coletas a cada quatro horas [médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$)].

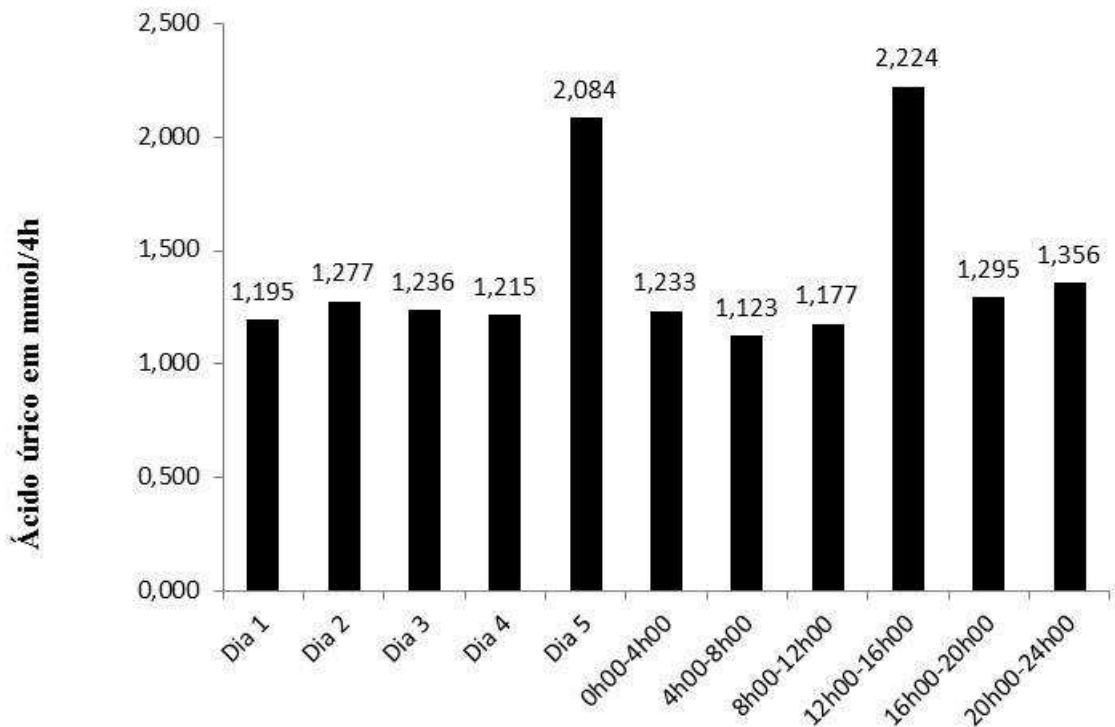


Figura 4 - Médias ajustadas para a excreção de ácido úrico em função dos dias e dos períodos de coletas a cada quatro horas [médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$)].

As excreções de Nt e NU apresentaram interação entre tratamento e período de coleta ($P < 0,05$).

Tabela 6: Médias ajustadas e probabilidade (Valor P) para a excreção urinária de nitrogênio total (Nt), mmol por 4 horas, em função dos tratamentos experimentais e dos períodos de coletas.

Tratamento	Período						Valor P
	0h00-4h00	4h00-8h00	8h00-12h00	12h00-16h00	16h00-20h00	20h00-24h00	
Controle	455,86	415,12	418,93	491,26	477,66	493,20	0,399
OF5	516,98b	483,35b	442,88b	645,97a	688,85a	644,12a	<0,001
OF10	604,95b	531,13b	581,25b	690,43b	891,41a	766,33b	<0,001
AR70	640,98a	558,87b	537,64b	674,82a	812,97a	701,16a	<0,001
AR40	816,41a	655,07b	655,57b	716,03b	882,12a	861,30a	<0,001

¹Médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$).

A excreção urinária de Nt não diferiu entre os períodos de coletas ($P > 0,05$) para o tratamento controle, entretanto, para os tratamentos OF5, OF10, AR70 e AR40 foram diferentes ($P < 0,05$). O tratamento OF5 demonstrou maiores excreções nos períodos das 12h00-16h00, 16h00-20h00 e 20h00-24h00 que foram semelhantes entre si, e menores excreções nos períodos das 0h00-4h00, 4h00-8h00 e 8h00-12h00, que também não diferiram entre si ($P < 0,05$). O suplemento OF10 proporcionou maiores excreções de Nt no período entre às 16h00-20h00, não diferindo ($P < 0,05$) entre os demais horários. A suplementação proteica com a utilização de concentrado autorregulador de consumo, no tratamento AR70, possibilitou maiores excreções nos períodos de 12h00-16h00, 16h00-20h00, 20h00-24h00 e 0h00-4h00, não apresentando diferença entre si ($P < 0,05$), diferindo apenas dos períodos entre as 4h00-8h00 e 8h00-12h00, que também foram semelhantes entre si. O tratamento AR40 apresentou as maiores excreções de Nt para os períodos de coletas das 16h00-20h00, 20h00-24h00 e 0h00-4h00, que não diferiram entre si, diferindo dos períodos 4h00-8h00, 8h00-12h00 e 12h00-16h00.

Tabela 7: Médias ajustadas e probabilidade (Valor P) para a excreção urinária de nitrogênio ureico (NU), mmol por 4 horas, em função dos tratamentos experimentais e dos períodos de coletas.

Tratamento	Período						Valor P
	0h00-4h00	4h00-8h00	8h00-12h00	12h00-16h00	16h00-20h00	20h00-24h00	
Controle	245,81	259,10	284,41	363,50	286,45	317,18	0,073
OF5	301,14	283,93	317,19	396,92	394,48	386,81	0,013
OF10	362,86b	341,42b	356,02b	414,36b	569,52a	513,68a	<0,001
AR70	421,77b	366,24b	362,91b	466,45b	524,22a	502,08a	<0,001
AR40	530,97a	477,67b	447,44b	504,61b	622,26a	676,22a	<0,001

¹Médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes (P<0,05).

A excreção urinária de NU dos tratamentos controle e OF5 não foram influenciadas (P>0,05) pelos períodos de coleta (P>0,05). Os tratamentos OF10 e o AR70 apresentaram efeito semelhante, com maiores excreções entre os períodos das 16h00-20h00 e 20h00-24h00, não diferindo entre si (P>0,05), e superiores aos demais períodos (P<0,05), que por sua vez não diferiram (P>0,05) entre si. O suplemento proteico de característica autorregulatória de consumo, o AR40, diferiu (P<0,05) de acordo o período de coleta, com maiores médias ajustadas para os períodos entre as 16h00-20h00, 20h00-24h00 e 0h00-4h00, não diferindo entre si, porém diferindo (P<0,05) dos períodos 4h00-8h00, 8h00-12h00 e 12h00-16h00, que foram semelhantes.

As relações urinárias de alantoína (AL) e ácido úrico (AU) com a creatinina (C) em mmol (Figuras 4 e 5, respectivamente) não foram influenciadas (P>0,05) pelos tratamentos, dias de coleta e períodos de coleta. Confirmando o resultado obtido por Chen et al., (1995) que agruparam as amostras em seis períodos de 4 horas, e não obtiveram diferenças entre as relações das concentrações de DP:C em função do tempo, em ovinos, e por Pereira (2009) que avaliou o efeito da hora da coleta de urina sobre a relação DP:C, em novilhas Nelore, em confinamento, de duas em duas horas e não encontrou diferença significativa para o período de coleta sobre a relação DP:C.

A ausência de efeito de dia e do período de coleta sobre a relação AL:C e AU:C viabiliza a obtenção de coleta *spot* de urina em qualquer período durante o dia ou noite, em animais mantidos a pasto.

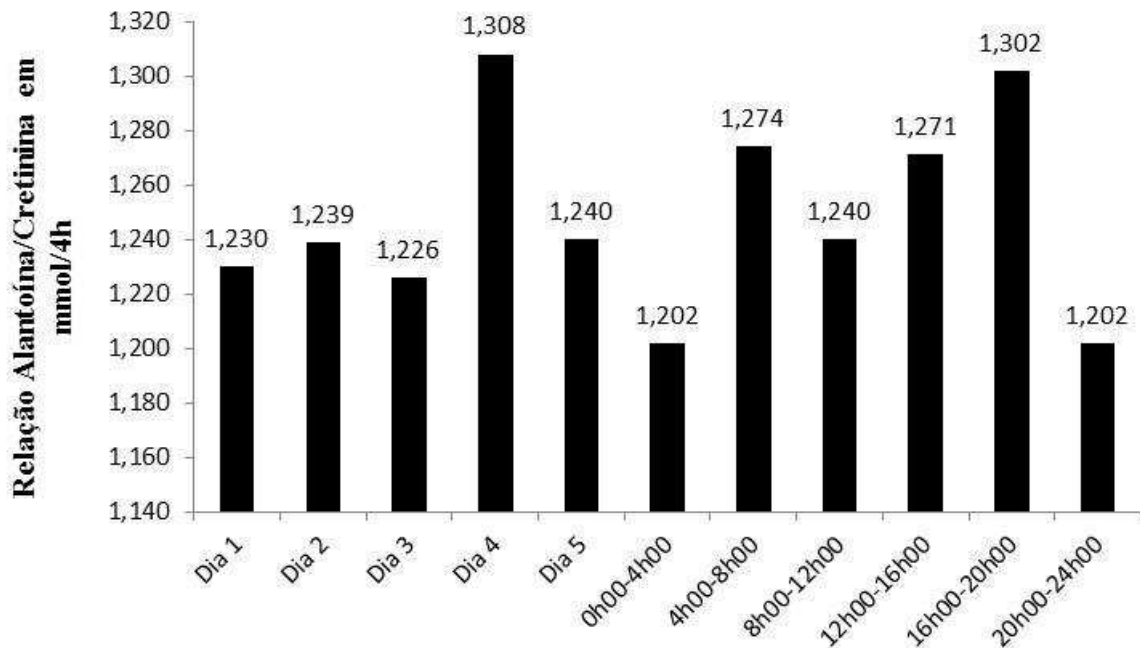


Figura 5 - Médias ajustadas para a relação alantoína:creatinina em função dos dias e dos períodos de coletas a cada 4 horas [médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$)].

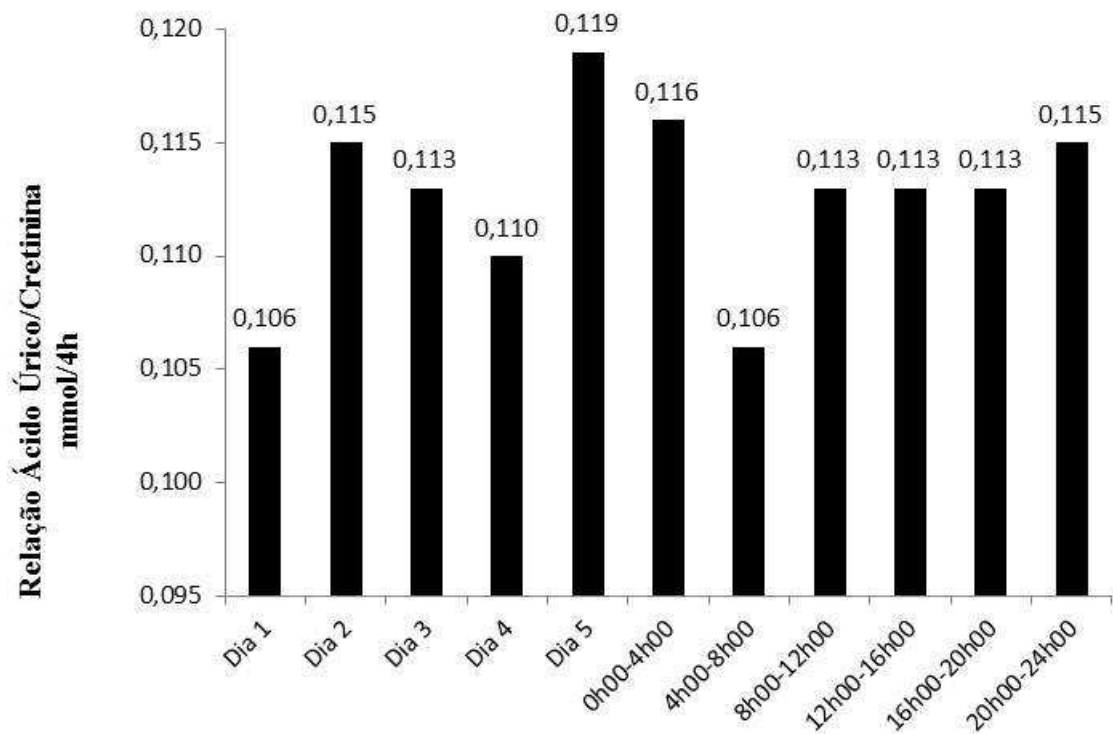


Figura 6 - Médias ajustadas para a relação ácido úrico:creatinina em função dos dias e dos períodos de coletas a cada quatro horas [médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$)].

A relação Nt:C na urina apresentou interação ($P < 0,05$) entre tratamento e período de coleta (Tabela 8) ($P < 0,05$), uma vez que a excreção de Nt está diretamente relacionada à ingestão de compostos nitrogenados e o metabolismo proteico.

Para o tratamento controle, não houve efeito do período de coleta de urina sobre a relação Nt:C ($P > 0,05$). O fornecimento do suplemento OF5 possibilitou maiores relações Nt:C nos períodos das 16h00-20h00, 20h00-24h00 e 12h00-16h00, embora este último período de coleta não tenha diferido das 0h00-4h00, 4h00-8h00 e 8h00-12h00. Os tratamentos OF10 e AR70 apresentaram maiores relações de Nt:C no período de 16h00-20h00 em relação aos demais, que não diferiram entre si ($P > 0,05$). A suplementação AR40 foi influenciada pelos períodos de coleta e mostrou maiores relações Nt:C para os períodos das 16h00-20h00, 20h00-24h00 e 0h00-4h00, e relações menores para os períodos de 4h00-8h00, 8h00-12h00 e 12h00-16h00. De maneira geral, para todos os tratamentos com suplementação proteica as maiores relações Nt:C são para o período de 16h00-20h00 o que pode ser explicado pelo horário de fornecimento do suplemento (12h00), mostrando que a excreção de Nt apresenta oscilações em função do tempo, o que inviabiliza a obtenção de uma única amostra de urina em qualquer horário do dia.

Tabela 8: Médias ajustadas e probabilidade (Valor P) para a relação nitrogênio total/creatinina (Nt:C), mmol por 4 horas, em função dos tratamentos experimentais e dos períodos de coletas.

Tratamento	Período						Valor P
	0h00-4h00	4h00-8h00	8h00-12h00	12h00-16h00	16h00-20h00	20h00-24h00	
Controle	42,40	38,44	39,49	42,89	42,53	41,02	0,826
OF5	46,03b	42,72b	42,41b	52,74ab	60,36a	54,50a	<0,001
OF10	54,73b	49,16b	54,37b	61,45b	74,67a	62,72b	<0,001
AR70	60,71b	52,21b	52,70b	60,85b	74,57a	61,16b	<0,001
AR40	75,27a	63,28b	62,31b	64,70b	80,85a	81,19a	<0,001

¹Médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$).

Assim como a relação Nt:C, a relação NU:C apresentou interação ($P < 0,05$) entre tratamento e período de coleta (Tabela 5) ($P < 0,05$). A relação NU:C (Tabela 9) apresentou-se semelhante à relação Nt:C, causada pelos mesmos fatores relacionados a ingestão de compostos nitrogenados, observando-se diferença significativa com o fornecimento de suplementação proteica (OF10, AR70 e AR40), fato que não ocorreu com os tratamentos controle e OF5, para este último possivelmente pela quantidade de ureia no suplemento. Após a alimentação ocorre pico de amônia ruminal, aumentando a

concentração de compostos nitrogenados séricos e conseqüentemente maior excreção de N, isto explica maiores relações no período da tarde após o consumo de concentrado (Russell et al., 1991).

Tabela 9: Médias ajustadas e probabilidade (Valor P) para a relação nitrogênio ureico:creatinina (NU:C), mmol por 4 horas, em função dos tratamentos experimentais e dos períodos de coletas.

Tratamento	Período						Valor P
	0h00-4h00	4h00-8h00	8h00-12h00	12h00-16h00	16h00-20h00	20h00-24h00	
Controle	22,32	23,18	24,83	31,01	24,97	26,05	0,153
OF5	24,83	24,51	29,03	30,35	32,37	30,38	0,129
OF10	32,72b	30,84b	31,42b	36,04b	47,18a	41,08a	<0,001
AR70	39,86b	33,23b	35,08b	39,39b	47,85a	42,48a	<0,001
AR40	48,15b	45,15b	41,68b	44,11b	51,22a	56,02a	<0,001

¹Médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes (P<0,05).

Os suplementos caracterizadores dos tratamentos OF10, AR70 e AR40 apresentaram nos períodos das 16h00-20h00 e 20h00-24h00, as maiores relações NU:C não diferindo entre si (P>0,05), seguido pelos períodos das 0h00-4h00, 4h00-8h00, 8h00-12h00 e 12h00-16h00, semelhantes entre si (P>0,05).

Em geral, observou-se maiores médias das relações Nt:C e NU:C após as 16:00h, 4 horas após a suplementação proteica, demonstrando haver um aumento nas concentrações urinárias neste período após a ingestão de alimentos. Por outro lado, as menores médias observadas foram encontradas nos períodos que antecederam à suplementação, nos períodos de 04h00-8h00 e 8h00-12h00, sendo semelhantes entre si. A partir da observação destes dados, pode-se inferir que a realização de uma amostragem no período que antecede a alimentação e a outra após a suplementação, permite a estimativa da excreção de compostos nitrogenados na urina.

A relação entre NU:Nt (Figura 5) foi influenciada (P<0,05) apenas pelo período de coleta, com semelhança estatística entre os períodos de 4h00-8h00, 8h00-12h00, 12h00-16h00 e 20h00-24h00, diferindo do período de 0h00-4h00 e 16h00-20h00, que foram semelhantes (P>0,05).

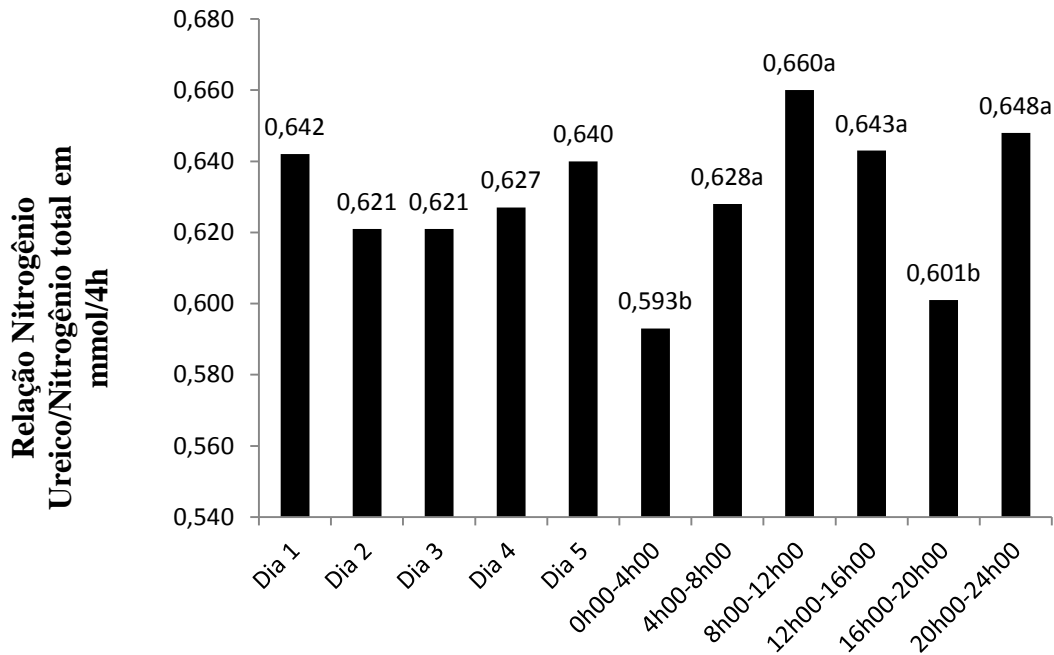


Figura 7 - Médias ajustadas para a relação nitrogênio ureico e nitrogênio total em função dos dias e dos períodos de coletas a cada quatro horas [médias de períodos seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$)].

As médias ajustadas para N ingerido (Ning), N fecal e Nurina, em g/dia, balanço de N em g/dia e sua relação com o Ning, N microbiano (Nmic), em g/dia e sua relação com o N ingerido (Ning) g/g, eficiência microbiana (EFM), expressa em g PBmic por kg de MOD (gPBmic/kgMOD) e por kgNDT (gPBmic/kgNDT) e a concentração de NU no soro (NUS) podem ser observadas na Tabela 10. Os animais que receberam o tratamento OF10 apresentaram a maior ingestão de N ($P < 0,05$), consequência do maior consumo de MO (Tabela 5). A menor ingestão de N ($P < 0,05$) foi obtida pelo tratamento controle devido à ausência de suplementação de compostos nitrogenados.

Tabela 10: Média, indicativo de significância, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (Valor de P) do nitrogênio ingerido (N ing), N fecal, N total (Nt) urina, N ureia (NU) urina, relação NU:Nt, balanço de N (g/dia), balanço de N (g/g ing), N microbiano (Nmic), relação Nmic com N ingerido (Nmic/Ning), eficiência microbiana por kg de matéria orgânica digerida (EFM gPBmic/kgMOD) e por kg de nutrientes digestíveis totais (EFM gPBmic/kgNDT), e N ureico no soro (NUS), em função dos tratamentos experimentais.

Item	Tratamentos ¹					EPM	Valor P
	Controle	OF5	OF10	AR70	AR40		
N ing (g/dia)	67,80c	110,94b	161,15a	115,99b	132,75b	12,879	<0,001
N fecal (g/dia)	33,64b	45,16a	56,01a	40,34b	46,56a	3,995	0,033
Nt urina (g/dia)	33,65c	43,15b	80,01a	50,34b	66,57b	3,434	0,011
NU urina (g/dia)	21,60c	26,71b	50,24a	33,82b	45,27a	3,169	0,036
NU:Nt (g/dia)	0,642b	0,619b	0,628b	0,672a	0,680a	0,125	0,089
Balanço N (g/dia)	0,51b	22,62a	25,13a	25,31a	19,62b	12,270	<0,001
Balanço N (g/g ing)	0,008b	0,204a	0,156a	0,237a	0,179a	0,0757	<0,001
Nmic (g/dia)	38,71	47,67	47,72	39,09	53,60	5,906	0,158
Nmic/Ning	0,571a	0,430b	0,296b	0,337b	0,404b	0,050	<0,001
EFM (gPBmic/kgMOD)	88,62b	99,42b	132,43a	115,23a	141,91a	14,997	<0,001
EFM (gPBmic/kgNDT)	87,34b	97,61b	133,63a	118,06a	143,23a	11,188	<0,001
NUS	7,46b	11,28b	12,67b	13,51a	12,86ab	1,638	0,034

¹Médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,05).

Os tratamentos OF5, OF10 e AR40 apresentaram maior excreção fecal de N (P<0,05), e não diferiram entre si, e os tratamentos AR70 e o controle apresentaram excreção inferior.

A excreção urinária de Nt diferiu entre os tratamentos (P<0,05), com maior média para o OF10, seguida pelos OF5, AR70 e AR40, que foram semelhantes entre si, diferindo por sua vez do tratamento controle, efeito causado pelas quantidades de compostos nitrogenados fornecidos. Os ruminantes possuem como meio principal de excreção de N a urina, uma vez havendo aumento na ingestão de N, possibilitando maiores índices séricos de N-ureia, o que pode acarretar em maior excreção urinária de compostos nitrogenados (Van Soest, 1994).

Os tratamentos OF10 e AR40 apresentaram as maiores excreções de NU na urina ($P>0,05$), seguido pelos tratamentos AR70 e OF5, que não diferiram entre si ($P>0,05$), sendo superiores ao tratamento controle que apresentou a menor excreção.

A relação NU:Nt na urina foi superior para os tratamentos AR70 e AR40 que foram semelhantes entre si ($P>0,05$), seguidas pelos tratamentos controle, OF5 e OF10, que não diferiram entre si ($P>0,05$).

O BN, em g/dia, não diferiu entre os tratamentos OF10, AR70 e AR40, e apresentou maiores retenções de N ($P<0,05$) que os tratamentos OF5 e controle, que foram semelhantes entre si. O BN, em g/ging, apresentou diferença ($P<0,05$) entre os suplementados, que foram superiores e não diferiram entre si, e o tratamento controle, que mostrou o menor BN, em função da ausência de suplementação proteica. Para Detmann et al. (2014) a retenção de N é reflexo da eficiência de uso de todos os substratos envolvidos na síntese de tecidos (musculo, órgãos) e produtos (leite, ganho de peso), o que corrobora com Alves et al. (2014), que afirmam que maiores retenções indicam melhor utilização do N dietético possibilitando maiores ganhos de peso.

A produção de compostos nitrogenados microbianos, não foi alterada ($P>0,05$) pelos tratamentos. Em dietas deficientes em N, o animal reduz a excreção de compostos nitrogenados e conseqüentemente aumenta a reciclagem de N no ambiente ruminal (Hennessy e Nolan, 1988), o que subsidia um aporte de N para utilização pelos microrganismos para síntese de Nmic. A síntese de compostos microbianos é dependente de outros fatores, como a concentração de substrato no rúmen para fermentação (Alves et al., 2014), em particular da disponibilidade de energia, e neste estudo não houve diferença ($P>0,05$) para o consumo de NDT e de MOdig (Tabela 3), provavelmente não havendo diferença na quantidade de substrato fermentável no rúmen.

A relação entre o Nmic e o Ning foi maior ($P<0,05$) para o tratamento controle, causada pelo menor consumo de N, devido à ausência de suplementação, no entanto não variou ($P>0,05$) entre os demais tratamentos.

A eficiência microbiana, nas duas formas apresentadas, foi afetada ($P<0,05$) pela suplementação, sendo maior ($P<0,05$) para os tratamentos OF10, AR70 e AR40, não havendo diferença ($P>0,05$) entre elas. Os tratamentos controle e OF5, apresentaram os menores valores e não diferiram entre si, possivelmente causado pela ausência de PB no tratamento controle e menor ingestão de PB causada pela menor quantidade de suplemento/PB fornecida (OF5). A média geral dos tratamentos que demonstraram

maior eficiência (OF10, AR70 e AR40) foi de 131,64 gPBmic/kgNDT valor superior ao descrito pelo BR-Corte de 120 gPBmic/kgNDT e semelhante ao relatado pelo NRC (2001), de 130 gPBmic/kgNDT.

A concentração de NUS tem sido utilizada para obtenção de maiores informações sobre o perfil nutricional para ruminantes (Chizzotti et al., 2007). Valores entre 13,52 e 15,15 mg/dL, de NUS demonstram haver melhor eficiência na utilização da proteína (Valadares et al., 1997). Neste experimento, o tratamento AR70, proporcionou valor semelhante aos valores supracitados, não diferindo ($P>0,05$) do tratamento AR40, causada pela alta quantidade de ureia em sua formulação, mesmo com consumo restrito de concentrado. Embora os tratamentos AR40 e o AR70 fossem semelhantes, o primeiro não diferiu ($P>0,05$) dos outros tratamentos experimentais, inclusive do controle, que não possuía suplementação nitrogenada.

A alta ingestão de compostos nitrogenados na forma de ureia, permite aumento na disponibilidade de N ruminal, e a velocidade da síntese de amônia sendo maior que a utilização pelos microrganismos (Santos e Pedroso, 2011), seja por ineficiência na utilização desta pelos microrganismos ou por excesso, características ligadas ao alimento ou pH do meio, promovem aumento na concentração sérica de ureia.

Conclusão

A ausência de efeito de dia e do período de coleta sobre a relação alantoína e ácido úrico com a creatinina tem grande aplicação prática, possibilitando utilizar a amostra *spot* de urina para calcular a excreção de derivados de purinas em qualquer horário do dia ou da noite, e conseqüentemente a produção microbiana.

Em função das variações observadas para as relações nitrogênio ureico e nitrogênio total com a creatinina ao longo do período de 24 horas, não se recomenda o uso de uma única amostra *spot* de urina para determinação destes compostos nitrogenados.

Referências Bibliográficas

- Alves, T. C., R. Franzolin, P. H. M. Rodrigues, and A. C. Alves. 2009. Efeitos de dietas com níveis crescentes de milho no metabolismo ruminal de energia e proteína em bubalinos. Rev. Bras. Zootec. 38:2001-2006.
- Alves, E. V., E. R. Magalhães, M. A. Freitas, E. J. Santos, M. L. A. Pereira, and M. S. Pedreira. 2014. Nitrogen metabolism and microbial synthesis in sheep fed diets

- containing slow release ureia to replace the conventional urea. *Acta Scientiarum*. 36:55-62.
- 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.
- Chen, X. B., and M. J. Gomes. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – on overview of technical details. Buscksburn: Rowett Research Institute. International Feed Resources Unit. (Occasional publication).
- Chen, X. B., A. T. Mejia, D. J. Kyle, and E. R. Ørskov. 1995. Evaluation of the use of the purine derivative:creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. *J. Agricultural Sci.* 125:137–143.
- Costa, V. A. C., E. Detmann, S. C. Valadares Filho, M. F. Paulino, L. T. Henriques, and H. C. Mantovani. 2008. Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função de suplementação com proteína e/ou carboidratos. *Rev. Bras. Zootec.* 37:494-503.
- Chizzotti, M. L., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares, F. H. M. Chizzotti, J. M. S. Campos, M. I. Marcondes, and M. A. Fonseca. 2006. Consumo, digestibilidade, excreção de ureia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. *Rev. Bras. Zootec.* 35:1813-1821.
- Chizzotti, M. L., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares, F. H. M. Chizzotti, M. I. Marcondes, and M. A. Fonseca. 2007. Consumo, digestibilidade e excreção de úreia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. *Rev. Bras. Zootec.* 36:138-146.
- Chizzotti, M. L., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares, F. H. M. Chizzotti, and L. O. Tedeschi. 2008. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Liv. Sci.* 113:218-225.
- Detmann, E., M. F. Paulino, J. T. Zervoudakis, S. C. Valadares Filho, R. F. Euclides, R. P. Lana, and D. S. Queiroz. 2001. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. *Rev. Bras. Zootec.* 30:1600-1609.
- Detmann, E., M. F. Paulino, H. C. Mantovani, S. C. Valadares Filho, C. B. Sampaio, M. A. Souza, I. Lazzarini, and K. S. C. Detmann. 2009. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. *Liv. Sci.* 126:136-146.
- Detmann, E., M. A. Souza, S. C. Valadares Filho, A. C. Queiroz, T. T. Berchielli, E. O. S. Saliba, L. S. Cabral, D. S. Pina, M. M. Ladeira, and J. A. G. Azevedo. 2012. Métodos para análise de alimentos – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Ciência Animal, INCT-CA. Universidade Federal de Viçosa, Visoça, MG. p. 214.

- Detmann, E., and S. C. Valadares Filho. 2010. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 64:980-984.
- Detmann, E., E. E. L. Valente, E. D. Batista, and P. Huhtanen. 2014. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. *Liv. Sci.* 162:141-153.
- Euclides, V. B. P.; K. Euclides Filho, and E. P. Costa. 2001. Desempenho de novilhas F1s Angus-Nelore em pastagens de *Brachiaria decumbens* submetidos a diferentes regimes alimentares. *Rev. Bras. Zootec.* 30:470-481.
- Hennessy, D. W., J. V. Nolan. 1988. Nitrogen kinetics in cattle fed a mature subtropical grass hay with and without protein meal supplementation. *Aust. J. Agric. Res.* 39:1135-1150.
- Hogson, J. 1990. *Grazing management: Science into practice*. 1th ed. London, UK. p. 203.
- INMET- Instituto nacional de meteorologia. <http://www.inmet.gov.br>. (Accessed 14 june 2014.)
- Johnson, L. M., J. H. Harrison, and R. E. Riley. 1998. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. *J. Dairy Sci.* 81:2408-2420.
- Lazzarini, I., E. Detmann, C. B. Sampaio, M. F. Paulino, S. C. Valadares Filho, M. A. Souza, and F. A. Oliveira. 2009. Dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61:635-647.
- Mendes, A. M. P., D. K. A. Silva, M. A. Ferreira, A. S. C. Veras, G. D. G. Ferreira, R. B. Vigoderis, H. G. S. Arcanjo, J. M. Silva Junior, J. S. Almeida, A. C. A. Fotius, and G. A. Farias. 2012. Ingestive behavior of pastured crossbred dairy cows offered different supplement types. *Trop Anim Health Prod.* 45:231.
- NRC. 1996. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7th ed. National Acad. Press, Washignton, D.C.
- Oliveira, A.S., R. F. D. Valadares, S.C. Valadares Filho, P. R. Cecon, L. N. Rennó, A. C. Queiroz, and M. L. Chizzotti. 2001. Produção de proteína microbiana e estimativa das excreções de derivados de purinas e de ureia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. *Rev. Bras. Zootec.* 30:1621-1629.
- Orellana Boero, P., J. Balcells, S. M. Martín-Orúe, J. B. Liang, and J. A. Guada. 2001. Excretion of derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. *Liv. Sci.* 68:243-250.

- Paulino, M. F., E., Detmann, and J. T. Zervoudakis. 2001. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastejo. In: Proc. 2th Symposium of beff cattle production. Viçosa, Brazil. p. 187.
- Paulino, M. F., D. M. Figueiredo, E. H. B. K. Moraes, M. O. Porto, M. F. L. Sales, T. S. Acedo, S. D. J. Villela, and S. C. Valadares Filho. 2004. Suplementação de bovinos em pastagem: uma visão sistêmica. In: Proc. 4th Symposium of beff cattle production. Viçosa, Brazil. p. 93.
- Paulino, M. F.; E. Detmann, and S. C. Valadares Filho. 2008. Bovinocultura funcional nos trópicos. In: Proc. 6th Symposium of beff cattle production. Viçosa, Brazil. p. 275.
- Pereira, K. P. 2010. Metabolismo proteico e desempenho de caprinos na caatinga. PhD Diss. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.
- Pereira, V. S. A. 2009. 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. Master Diss. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Perez, J. F., J. Balcells, J. A. Guarda, and C. Castrillo. 1996. Determination of rumen microbial nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ^{15}N and purine bases as maskrs of microbial-nitrogen entering the duodenal. *Br J Nutr* 75:699-709.
- Rennó, L. N., R. F. D. VALADARES, M. I. LEÃO, S. C. Valadares Filho, J. F. C. Silva, P. R. Cecon, H. L. C. Dias, M. A. L. Costa, and R. V. Oliveira. 2000. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhas. *Rev. Bras. Zootec.* 29:1223-1234.
- Russell, J. B., R. Onodera, and T. Hino. 1991. Ruminant protein fermentation: new perspectives and previous contradictions. In: T. Tsuda, Y. Sasaki, E. Kawashima, editor. *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Academic Press. New York, NY. p. 681-697.
- Sampaio, C. B., E. Detmann, I. Lazzarini, M. A. Souza, M. F. Paulino, and S. C. Valadares Filho. 2009. Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogeneous compounds. *Rev. Bras. Zootec.* 38:560-569.
- Santos, F. A. P., and A. M. Pedroso. 2011. Metabolismo de proteína. In: T. T. Berchielli, A. V. Pires, S. G. Oliveira., editor, *Nutrição de Ruminantes*. 2th ed. Jaboticabal, SP. p. 265-297.
- Silva, S. C., and C. G. S. Pedreira. 1997. Princípios de ecologia aplicados ao manejo de pastagem. In: Proc. 3th Simpósio sobre ecossistemas de pastagem. Jaboticabal, Brazil. p. 62.

- Silva, A. G. 2012. Grão de soja em suplementos múltiplos pra novilhos de corte em pastejo. Master Diss. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. p. 45.
- SAS. SAS Institute Inc. In: R. C. Littell, G. A. Milliken, W. W. Stroup, R. D. Wolfinger, and O. Schabenberger, editor, SAS[®] for mixed models, 2th ed.
- Vagnoni, D. B., G.A. Broderick, M. K. Clayton, and R. D. Hatfield. 1997. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. *J. Dairy Sci.* 80:1695-1702.
- Valadares, R. F. D., L. C. Gonçalves, I. B. Sampaio, N. M. Rodriguez, and J. F. C. Silva. 1997. Níveis de proteína bruta em dietas de bovinos. 2 Consumo, digestibilidade e balanço de compostos nitrogenados. *Rev. Bras. Zootec.* 26:1259-1263.
- Valadares Filho, S. C., E. H. B. K. Moraes, K. A. Magalhães, M. L. Chizzotti, and M. F. Paulino. 2004. Alternativas para otimização da utilização de ureia para bovinos de corte. In: *Proc. 4th Symposium of beff cattle production*. Viçosa, Brazil. p. 313.
- Valadares Filho, S. C., and R. F. D. Valadares. 2001. Teores de proteína em dietas de vacas de leite. In: *Proc. 2th International symposium of dairy cattle*. Lavras, Brazil.
- Valadares Filho, S. C., P. V. R. Paulino, and K. A. Magalhães. 2006. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos – BR Corte. 1th ed. Viçosa, MG. p. 142.
- Valadares, R. F. D., S. C. Broderick, S. C. Valadares Filho, and M. K. Clayton. 1999. Effect of replacing alfafa silage with high misture on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivates. *J. Dairy Sci.* 82:2686-2696.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutrition ecology of the ruminant*. 2th ed. Cornell University Press.
- 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 derivative excretion by steers. *J. Agricultural Sci.* 114:243-248.
- Zanine, A. M., B. R. Vieira, D. J. Ferreira, A. J. M. Vieira, and P. R. Cecon. 2007. Comportamento ingestivo de bovinos em diferentes categorias em pastagens de capim coast-cross. *Biosci. J.* 23:111-119.