

ALEX DOS SANTOS RODRIGUES JUNIOR

**COLETA SPOT DE URINA PARA ESTIMAR A EXCREÇÃO DE DERIVADOS DE PURINAS E
COMPOSTOS NITROGENADOS EM NOVILHAS SUPLEMENTADAS COM NÍVEIS
CRESCENTES DE UREIA A PASTO**

VIÇOSA - MINAS GERAIS 2024

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

T

R696c
2024

Rodrigues Junior, Alex dos Santos, 1998-
Coleta *spot* de urina para estimar a excreção de derivados
de purinas e compostos nitrogenados em novilhas suplementadas
com níveis crescentes de ureia a pasto / Alex dos Santos
Rodrigues Junior. – Viçosa, MG, 2024.
1 dissertação eletrônica (45 f.): il.

Orientador: Luciana Navajas Rennó.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Zootenia, 2024.

Inclui bibliográficas.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.448>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Nelore (Bovino). 2. Alantoína. 3. Urina - Análise.
4. Creatinina – Excreção. 5. Ureia como ração. 6. Nitrogênio.
I. Rennó, Luciana Navajas, 1973-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Zootenia. Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 636.29

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552

ALEX DOS SANTOS RODRIGUES JUNIOR

**COLETA SPOT DE URINA PARA ESTIMAR A EXCREÇÃO DE DERIVADOS DE PURINAS E
COMPOSTOS NITROGENADOS EM NOVILHAS SUPLEMENTADAS COM NÍVEIS
CRESCENTES DE UREIA A PASTO**

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*.

Orientadora: Luciana Navajas Rennó


ALEX DOS SANTOS RODRIGUES JUNIOR

**COLETA SPOT DE URINA PARA ESTIMAR A EXCREÇÃO DE DERIVADOS DE
PURINAS E COMPOSTOS NITROGENADOS EM NOVILHAS SUPLEMENTADAS
COM NÍVEIS CRESCENTES DE UREIA A PASTO**


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: 26 de fevereiro de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **ALEX DOS SANTOS RODRIGUES JUNIOR**
Data: 19/08/2024 16:13:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Alex dos Santos Rodrigues Junior
Autor

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANA NAVAJAS RENNO**
Data: 19/08/2024 16:19:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Luciana Navajas Rennó
Orientadora

*Para todos aqueles que me apoiaram,
acreditaram e torceram por mim.*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por permitir chegar nessa etapa que concretiza o final de um ciclo. Mesmo com vários desafios que me fizeram ter medo, insegurança ou até mesmo pensar que poderia ser incapaz de vivenciar uma nova realidade com vários obstáculos, saudades de casa e longe das pessoas que amo, procurei manter minha fé e sempre acreditar que no final tudo daria certo.

Agradeço a todos meus familiares, (primas, tios, tias e avós) que estão sempre preocupados em saber se estou bem, como estou indo e quando vou voltar pra casa (mal sabem eles, kkkk). Mas dedico esses agradecimentos especialmente a minha mãe que sempre apoiou e respeitou minhas decisões, independente das minhas escolhas. Sua fé e a grande vontade de ver dando tudo certo em minha trajetória foi a grande motivação para nunca desistir de nada.

Aos meus amigos do Ceara, que nunca esqueci e por mais que estejam tão distantes, sempre procuro torna-los presentes em minha vida compartilhando meus medos, inseguranças, frustrações e conquistas. Mesmo não me comunicando todos os dias com eles, estou sempre mantendo contando, por mais que tenha alguma coisa boba pra ser dita, a reciprocidade que recebo deles significa muito para mim.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao INCT- Ciência Animal e FAPEMIG pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Ao Departamento de Zootecnia por permitir conduzir meu experimento.

Aos funcionários do DZO que me ajudaram bastante durante o mestrado, seja na execução do experimento, onde posso mencionar Neco e Nori, que foram pessoas incríveis e bastante prestativas. Aos técnicos do laboratório de nutrição animal - LNA, agradeço a Bernadete pelo serviço, Marcelo pela paciência e Fabiola pelo apoio.

As minhas novilhas (9007, 9090, 9094, 9111 e 9104) por serem abençoadas por Deus e colaborarem tanto no desafio que foi de coletar meus dados no pasto.

Aos integrantes do Laboratório de Nutrição de Ruminantes (LabNUR) e ao Laboratório de Forragicultura que me ajudaram na realização das análises, nas orientações e nos conselhos acadêmicas.

Aos Professores Sebastião Valadares e Mario Chizzotti pela contribuição para a construção de minha dissertação.

Ao Jarbas, famoso Silva Junior et al. (2021), que contribuiu bastante desde o início até o final para realização desse trabalho.

Agradeço a minha orientadora Luciana Navajas Rennó (Lucimae) que pôde ser mais que uma orientadora. Com ela pude confiar, contar e acreditar em tudo que estava fazendo, mesmo em um ambiente caótico em que a Pós-Graduação nos proporciona. Mas consegui sobreviver e obter um bom aprendizado e ótimas experiências durante essa caminhada ao lado dela.

Agradeço a todos meus amigos e estagiários do Laboratório de Fisiologia Animal que prestaram um apoio enorme para que esse trabalho seja executado. Todas as risadas, as loucuras, o estresse (minha pálpebra tremendo nesse exato momento quando lembro do estresse) a correria, e os ensinamentos durante esse momento foi incrivelmente somado ao meu desempenho profissional. Lembro que a cada período do experimento que acontecia eu não sabia como iria sobreviver (kkkkkrying, rindo pra não chorar), mas graças a minha rede de apoio, tanto das pessoas já mencionadas, como pessoas de fora do meu grupo de pesquisa, me sinto abençoado por Deus por colocarem vocês em minha vida para agregar a minha vida.

Agradeço também as minhas amigas do grupo GGDA composto por Duda e as Gabis, que se fizeram sempre presente em todos os momentos. Vivemos diversas situações onde a amizade, a confiança e o apoio sempre se fez presente. Meninas, vocês foram incríveis, cada uma com um trauma diferente, uma energia do caos ao lado de nós quando estávamos juntos, a vida sempre querendo nos tombar, mesmo já estando caídos, nossas preocupações em querer realizar sempre o certo, enfim. Foram muitos dias de lutas, sem um dia de paz, em, mas a amizade persistiu sendo linda e forte.

E por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer ao Eder e sua família que chegaram nos momentos finais dessa etapa que trilhei, mas conseguiram me cativar de um jeito que hoje eles possuem um significado enorme

para mim. Com essas pessoas pude vivenciar bons momentos, que necessitei para poder respirar um pouco antes de continuar meu trabalho.

Muito Obrigado!

*“Otimismo é a fé que leva à realização;
nada pode ser feito sem esperança”.*
(Helen Keller)

RESUMO

RODRIGUES JUNIOR, Alex dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Coleta spot de urina para estimar a excreção de derivados de purinas e compostos nitrogenados em novilhas suplementadas com níveis crescentes de ureia a pasto.** Orientadora: Luciana Navajas Rennó.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a excreção de derivados de purinas (DP) e compostos nitrogenados (CN) e suas relações com a creatinina em novilhas em pastejo suplementadas com diferentes níveis de ureia, e encontrar um esquema de coleta *spot* para substituir a coleta total de urina para estimar a excreção de DP e CN em pastejo. Foram utilizadas cinco novilhas Nelore com peso corporal médio de 400kg, distribuídas em quadrado latino 5x5. Cada período experimental teve duração de 18 dias, sendo 14 de adaptação à dieta, três para coleta de urina total e coleta pontual de fezes e um dia para coleta de urina *spot*, líquido ruminal e sangue. Para a coleta total de urina, foi utilizada sonda de Folley nº 26, duas vias, com balão de 50 mL, onde na extremidade livre da sonda foi acoplada uma mangueira que conduziu a urina por meio de um sistema fechado até uma bolsa coletora (bolsa de polietileno) com capacidade máxima de dois litros, no qual foi fixada pelo auxílio de cordas ao pescoço do animal, na região ventral. Nas amostras de urina foram determinadas as concentrações de creatinina como indicador do volume urinário, compostos nitrogenados representados pelo nitrogênio urinário (NU) e nitrogênio ureia (NUreia), bem como os derivados de purinas que comporam a determinação da excreção de alantoína (AL) e ácido úrico (AU). Para análise estatística utilizou-se o programa estatístico do SAS. Os níveis de ureia não influenciaram ($P>0,05$) o consumo de MS total e de nutrientes, assim como o de NDT ($P>0,05$). As concentrações de nitrogênio amoniacal do rúmen (NAR) e N ureico no soro (NUS) foram afetadas ($P<0,05$) pelos níveis de ureia do concentrado no período de 24h. A excreção de creatinina diária foi de 22,94 mg/kgPC e não foi influenciada pelos tratamentos, dias de coleta ou períodos de coleta, assim como as excreções de DP. As excreções de NU e de NUreia foram influenciadas pelo horário de coleta ($P<0,05$). Para a excreção dos CN observou variação durante o período de coleta ($P<0,05$). A avaliação comparativa da excreção de creatinina com as amostras *spot* de urina não diferiu ($P>0,05$) entre as duas formas de coleta estudadas. Assim, foi possível realizar a combinação da média entre duas amostras dos dois métodos

mencionados com amostragem a cada 4 horas, observando-se que os horários de 8 às 16 horas sofreu menor variação no quadrado médio dos erros de predição (QMPE) para as variáveis AL:Cre, Au:Cre, NUrea:Cre e NU:Cre. A excreção de creatinina é constante em um período de 24 horas e estima adequadamente o volume urinário em bovinos em pastejo. Uma única coleta de *spot* de urina pode ser utilizada para estimar a excreção dos derivados de purinas. No entanto, para estimar a excreção dos compostos nitrogenados, recomenda-se a utilização de duas amostras de urina com coleta *spot*, às 8 e 16h horas.

Palavras-chave: Alantoína; Nitrogênio não proteico; Nitrogênio urinário; Zebuínos.

ABSTRACT

RODRIGUES JUNIOR, Alex dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2024. **Urine spot collection to estimate the excretion of purine derivatives and nitrogenous compounds in heifers supplemented with increasing levels of urea on pasture** . Adviser: Luciana Navajas Rennó.

The objective of this study was to evaluate the excretion of purine derivatives (PDs) and nitrogen compounds (NCs) and their relationships with creatinine in grazing heifers supplemented with different levels of urea, and to find a spot urine collection scheme to replace total urine collection for estimating PD and NC excretion on pasture. Five Nelore heifers with an average body weight of 400kg were used, distributed in a 5x5 Latin square design. Each experimental period lasted 18 days, with 14 days for diet adaptation, three days for total urine collection and spot collection of feces, and one day for spot urine collection, ruminal fluid, and blood sampling. For total urine collection, a Foley catheter (size 26, two ways) with a 50 mL balloon was used. A hose attached to the free end of the catheter led urine through a closed system to a collection bag (polyethylene bag) with a maximum capacity of two liters, secured around the animal's neck region with cords. Urine samples were analyzed for creatinine concentrations as an indicator of urine volume, nitrogen compounds represented by urinary nitrogen (UN) and urinary urea nitrogen (UUN), as well as purine derivatives including allantoin (AL) and uric acid (UA). Statistical analysis was performed using SAS software. Urea levels did not influence ($P>0.05$) total dry matter intake, nutrient intake, or digestible nutrients intake ($P>0.05$). Ruminal ammonia nitrogen (RAN) concentrations and serum urea nitrogen (SUN) were affected ($P<0.05$) by urea levels in the concentrate over a 24-hour period. Daily creatinine excretion was 22.94 mg/kg BW and was not influenced by treatments, collection days, or collection periods, nor were PD excretions. UN and UUN excretions were influenced by collection time ($P<0.05$). Variations in NC excretions were observed during the collection period ($P<0.05$). Comparative evaluation of creatinine excretion between spot urine samples did not differ ($P>0.05$) between the two collection methods studied. Thus, averaging between two samples from each of the two methods with sampling every 4 hours was feasible, with the 8:00 to 16:00 period showing the lowest mean square of prediction error (MSPE) for variables AL, UA:Cre, UUN:Cre and UN:Cre. Creatinine excretion was consistent over a 24-hour

period and adequately estimated urine volume in grazing cattle. A single spot urine collection can be used to estimate purine derivative excretion. However, for estimating nitrogen compound excretion, it is recommended to use two spot urine samples collected at 8:00 and 16:00 hours.

Keywords: Allantoin; Non-protein nitrogen; Urinary nitrogen; Zebu cattle.

SUMÁRIO

1 Introdução geral.....	13
Referências	17
2 Introdução	20
3 Material e Métodos	22
3.1 Animais, manejo e delineamento experimental	22
3.2 Coletas e preparo das amostras.....	24
3.3 Análises laboratoriais	26
3.4 Cálculos	26
3.5 Procedimento estatístico	28
4 Resultados	29
5 Discussão.....	38
6 Conclusões.....	41
Referências	42

1. Introdução Geral

O Brasil figura como um dos principais países na produção e comercialização de carne bovina no mundo com um aumento no número de animais abatidos no ano de 2022, correspondente a 42,31 milhões de cabeças, representando uma alta de 7,5% frente ao ano anterior, o que possibilitou uma produção de 10,79 milhões de toneladas no ano de 2022 e participação de 27,9% nas exportações mundiais no mesmo ano (ABIEC, 2023; IBGE, 2023).

A cadeia produtiva brasileira tem sido aprimorada nos últimos anos, existindo um aumento da taxa de ocupação, crescimento do rebanho bovino em cerca de 3,3% estimado em 202 milhões de cabeças e a redução da área de pastagens em 5,7% para aproximadamente 154 milhões de hectares, comparado ao ano de 2017 que possuía em torno de 160 milhões em áreas de pastagens. Embora a eficiência produtiva do país tenha aumentado, cerca de 80% da produção animal ainda é mantida em condições de pastagens (ABIEC, 2023).

As pastagens assumem grande importância na produção animal pelo fato de ser uma fonte barata de alimento quando comparada a outros produtos destinados a alimentação animal. Isso permite que a produção de bovinos no Brasil seja desenvolvida por um menor custo, viabilizando a competitividade da pecuária nacional (Carvalho et al., 2009; Ferraz e Felício, 2010). Contudo, as áreas de pastagens em condições tropicais costumam passar por períodos sazonais em algumas épocas do ano, afetando sua disponibilidade e qualidade, principalmente durante o período seco (Casagrande et al., 2013).

A qualidade das pastagens se torna um ponto crucial para o desempenho desses animais mantidos a pasto, uma vez que o consumo de um alimento de baixa qualidade interfere na capacidade do animal de suprir suas exigências nutricionais requeridas para alcançar produtividade. Situação essa que pode acarretar em um baixo desempenho animal, trazendo ineficiência na prática da atividade, diminuindo a rentabilidade econômica do sistema produtivo (Hoffmann et al., 2014).

Um dos meios utilizados para correção das deficiências nutricionais em virtude da perda da qualidade nutricional do pasto devido a estacionalidade da produção forrageira proporcionada pelas variações climáticas é encontrada pela suplementação alimentar (Prado et al., 2003; Paulino et al., 2006; Moraes et al., 2010).

Diante disso, um ponto bastante discutido nos sistemas de produção de gado de corte é retratado pelos gastos com alimentação que representam de 70 a 90% dos custos operacionais totais, sendo a proteína, um dos nutrientes de maior valor econômico (Valadares Filho et al., 2005; Sales et al., 2010). Assim, é tido a busca por alimentos pouco comuns que podem ser utilizados como fontes alternativas de carboidratos e proteínas para ruminantes, fornecendo nutrientes suficientes para alcançar maior produção e redução dos gastos com alimentação.

Dentre os alimentos alternativos de valor proteico está inserida a ureia, compreendida como uma fonte de nitrogênio não proteico (NNP) de alta equivalência proteica, utilizada de forma estratégica em virtude do seu baixo valor econômico comparado a outros ingredientes e para o atendimento da proteína degradável no rúmen (PDR) (Rech, 2013).

A ureia é considerada como fonte de PDR por ser rapidamente hidrolisada pela ação da urease sintetizada pelas bactérias do rúmen, produzindo amônia e dióxido de carbono após ser ingerida. A amônia produzida será utilizada pelos microrganismos para síntese de proteína microbiana como também pode ser absorvida pela parede ruminal e metabolizada pelo fígado (Rech, 2013).

A maior eficiência de produção de proteína microbiana em dietas suplementadas com ureia é alcançada quando elevações na concentração de amônia no rúmen estão sincronizadas com alta disponibilidade de energia ruminal. Assim, com a rápida degradação da ureia no rúmen, as proporções adequadas de carboidratos de fermentação rápida e média maximizam a utilização da mesma (Guimarães Jr. et al., 2007).

As exigências dietéticas de proteína metabolizável para ruminantes são atendidas mediante a absorção no intestino delgado da proteína microbiana e proteína dietética não-degradada no rúmen (PNDR), uma vez que a proteína microbiana pode chegar a suprir, aproximadamente, 50 a 100% da proteína metabolizável exigida para manutenção em bovinos de corte (NRC, 1996). Dessa forma, tem sido objetivo da nutrição de ruminantes a maximização do fluxo da proteína microbiana para o intestino delgado (Valadares Filho e Valadares, 2001).

Por meio da importância da proteína microbiana para o metabolismo proteico dos ruminantes, a quantificação do seu fluxo sob diferentes condições dietéticas e fisiológicas é fundamental para o atendimento dos requisitos em aminoácidos absorvidos. Com este propósito, alguns dos métodos mais utilizados para mensurar

a produção de compostos nitrogenados de origem microbiana incluem a utilização de marcadores internos como: bases de purinas, ácido 2,6-diaminopimélico (DAPA), D-alanina e através dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), além dos marcadores externos como os isótopos estáveis ^{15}N e compostos radioativos como o ^{35}S e ^{32}P (Broderick e Merchen, 1992; Chen e Gomes, 1992; Chizzotti et al., 2008).

Entretanto, de um modo geral, estes métodos são laboriosos e invasivos aos animais experimentais capazes de proporcionar certo desconforto animal para serem executados, levando a necessidade de implementar técnicas menos invasivas para a condução dos experimentos (Chizzotti, 2004).

Ao longo dos últimos anos, tem sido demonstrado que coletas de urina têm grande aplicação na quantificação da síntese microbiana do rúmen, através da excreção urinária de derivados de purinas (DP) (Perez et al., 1996; Pereira, 2009).

No entanto, o método de determinação da síntese de proteína microbiana baseado na excreção de DP requer coleta total de urina, que se trata de uma técnica laboriosa, que pode causar desconforto ao animal, alta possibilidade de provocar lesões no trato urinário e extremamente difícil de ser realizada como rotina experimental, principalmente com animais mantidos a pasto (Silva Júnior et al., 2018).

Por esses motivos, pesquisas têm sido realizadas para estimar o volume urinário diário e a excreção de DP a partir do uso da coleta *spot*, utilizando a creatinina como indicador do volume urinário (Valadares et al., 1999). 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).

Pereira (2009), avaliando o efeito da hora da coleta de urina sobre a relação nitrogênio total:creatinina e ureia:creatinina em animais confinados, observou variação na excreção de compostos nitrogenados ao longo do dia. Silva Júnior et al. (2021) verificaram, em novilhas mantidas a pasto, que a relação entre nitrogênio total:creatinina e nitrogênio ureia:creatinina apresentou efeito do período de coleta ao longo do dia, e recomendaram duas coletas *spot* de urina, quatro horas antes e após o fornecimento do suplemento.

Dessa forma, a hipótese do presente estudo é que a coleta total de urina pode ser substituída pela coleta pontual de urina, ou coleta *spot*, para estimar a excreção

de DP e compostos nitrogenados em novilhas suplementadas com diferentes níveis de ureia, em pastejo. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a excreção de DP e compostos nitrogenados e suas relações com a creatinina em animais mantidos a pasto, suplementados com diferentes níveis de ureia, e encontrar um esquema de coleta *spot* para substituir a coleta total de urina para estimar a excreção de DP e compostos nitrogenados em pastejo.

Referencias

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Beef Report: Exportações de carne bovina**. Rio de Janeiro: ABIEC, 2023.

Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2023-capitulo-01/.PDF>. Acesso em: 28 de out. de 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE.

Beef Report: A pecuária do Brasil. Rio de Janeiro: ABIEC, 2023. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2023-capitulo-04/.PDF>. Acesso em: 28 de out. de 2023.

BRODERICK, G. A.; MERCHEN, N. R. Marcadores para quantificação da síntese de proteínas microbianas no rúmen. **Journal of Dairy Science**, v. 9, pag. 2618-2632, 1992.

CARVALHO, T. B. D.; ZEN, S. D.; TAVARES, E. C. N. Comparação de custo de produção na atividade de pecuária de engorda nos principais países produtores de carne bovina. SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 2009, Porto Alegre, RS. Anais... Porto Alegre, RS: UFRGS 2009.

CASAGRANDE, D. R.; MORETTI, M. H.; REIS, R. A. Estratégias de suplementação de bovinos de corte e seus efeitos sobre a eficiência da terminação. **8th Symposium of beef cattle production**. Lavras, Brazil. p. 59, 2013.

CHIZZOTTI, M. L. **Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras**. 2004. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, p. 149. 2004.

CHIZZOTTI, M. L. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 36, p. 138-146, 2007.

CHIZZOTTI, M. L. et al. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v. 113, p. 218-225, 2008.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – on overview of technical details. **Rowett Research Institute**, 1992.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. Production Systems – An Example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

GUIMARAES JUNIOR, R. et al. **Ureia na alimentação de vacas leiteiras**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 33p, 2007.

HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de química fisiológica**.

5.ed. São Paulo: Atheneu, p. 736, 1982.

HOFFMANN, A. et al Produção de Bovinos de Corte no Sistema de Pasto-Suplemento no Período Seco. **Nativa**, v. 2, p. 119-130, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Em 2022, abate de bovinos volta a subir e produção de ovos de galinha bate recorde**. Rio de Janeiro: Estatísticas Econômicas, 2023. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/36455-em-2022-abate-de-bovinos-volta-a-subir-e-producao-de-ovos-de-galinha-bate-recorde>. Acesso em: 28 de out. de 2023.

MORAES, E. H. B. K. Et al. Exigências de proteína de bovinos anelados em pastejo. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 39, n. 3, p. 601-607, 2010.

National Research Council – NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7th. ed. Washington, DC: National Academy Press, 1996.

PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. Suplementação animal em pasto: energética ou proteica. **Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem**, v. 3, n. 2006, p. 359-392, 2006.

PRADO, I. N. D. et al. Sistemas para crescimento e terminação de bovinos de corte a pasto: avaliação do desempenho animal e características da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 955-965, 2003

PEREZ, J. F.; et al. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. **British Journal of Nutrition**, v. 75, n. 5, p. 699-709, 1996.

PEREIRA, V. S. A. **Influência do peso corporal e das características de carcaça sobre a excreção de creatinina e utilização de coleta spot de urina para estimar a excreção de derivados de purinas e de compostos nitrogenados em novilhas Nelore**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

RECH, A. F. Alimentos alternativos para a pecuária de leite: uma revisão. **Agropecuária Catarinense**, v. 26, n. 2, p. 42-46, 2013.

SALES, M. F. L. et al. Exigências proteicas de bovinos de corte suplementados a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 2066-2072, 2010.

SILVA JÚNIOR J. M. et al. Evaluation of collection days and times to estimate urinary excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in grazing Nelore cattle. **Livestock Science**, v. 217, p. 85-91, 2018.

SILVA JÚNIOR, J. M. et al. Estimating purine derivatives and nitrogen compound excretion using total urine collection or *spot* urine samples in grazing heifers. **Journal**

of Animal Physiology and Animal Nutrition, v. 105, n. 5, p. 861-873, 2021.

VALADARES, R. F. D. et al. Effect of replacing alfafa silage with high misture on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivates. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p 2686-2696, 1999.

VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. Teores de Proteína em dietas de vacas de leite. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GADO DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais... Lavras: Universidade Federal de Lavras**, 2001.

VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, P. V. R.; SAINZ, R. D. Desafios metodológicos para determinação das exigências nutricionais de bovinos de corte no Brasil. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 42, p. 261-287, 2005.

2. Introdução

Segundo a ABIEC (2023), o percentual de animais não confinados que foram abatidos no Brasil correspondeu a 81,98%, sendo 18,02% proveniente do abate de animais em sistemas de confinamento. Isto reflete na forma de como a bovinocultura de corte do país é desenvolvida, utilizando de forma majoritária o pasto como principal recurso forrageiro para a alimentação desses animais.

Contudo, as áreas de pastagens em condições tropicais costumam passar por períodos sazonais em algumas épocas do ano como o período seco, causando alterações em sua disponibilidade e qualidade, implicando no desempenho dos animais por não suprir suas exigências nutricionais requeridas para elevar a produtividade (Casagrande et al., 2013; Hoffmann et al., 2014).

Com a finalidade de corrigir as deficiências nutricionais provenientes do pasto, principalmente durante o período seco, é recomendado a utilização da estratégia alimentar via suplementação, permitindo o suprimento dos nutrientes em falta e consequentemente a redução do ciclo de produção para o abate (Prado et al., 2003; Paulino et al., 2006; Moraes et al., 2010). Para isso, a ureia, principal fonte de compostos nitrogenados não proteicos, é utilizada pelo fato de promover maior crescimento microbiano ruminal, elevando a digestibilidade da forragem de baixa qualidade, o consumo de matéria seca e de energia, resultando em um melhor desempenho animal, além de baratear os custos de produção ao substituir parcialmente os concentrados proteicos nas rações (Borges et al., 1998; Reis et al., 1997; Silva et al., 2001; Souza et al., 2010).

As exigências dietéticas dos animais ruminantes são atendidas praticamente pela absorção dos aminoácidos provenientes da proteína microbiana em nível de intestino delgado, uma vez que a mesma pode chegar a suprir aproximadamente, 50 a 100% da proteína metabolizável exigida para manutenção em bovinos de corte (NRC, 1996). Dessa forma, tem sido objetivo da nutrição de ruminantes a maximização do fluxo da proteína microbiana para o intestino delgado (Valadares Filho e Valadares, 2001).

Tendo visto a importância da proteína microbiana, a quantificação de sua síntese tem sido demonstrado ao longo dos últimos anos que coletas de urina possui grande aplicação para isso, através da excreção urinária de DP por meio da coleta total de urina ou coleta *spot* de urina (Valadares et al., 1999; Pereira, 2009;

Silva Júnior et al. 2018).

No entanto, o método de determinação da síntese de proteína microbiana executada pela coleta total de urina se torna extremamente difícil de ser realizada como rotina experimental, por se tratar de uma técnica laboriosa que causa desconforto ao animal com possíveis lesões no trato urinário dos animais utilizados por necessitarem estar sondados (Silva Júnior, 2018).

Por esses motivos, poucos experimentos realizaram coleta total de urina em fêmeas com sondas. Sendo que estes estudos (Susmel et al., 1994; Valadares et al., 1997; Vagnoni et al., 1997; Pereira, 2009), quase que em sua totalidade, com exceção dos trabalhos de Silva Júnior et al., (2018 e 2021) que avaliaram a excreção de DP e de CN em bovinos em pastejo, foram conduzidos em sistema de confinamento. Sendo, portanto, quase que inexistentes dados com coleta total de urina em animais em pastejo.

Para isso, a coleta *spot* de urina tem sido colocada como uma técnica alternativa a coleta de urina total para estimar a excreção de DP e CN, onde essa coleta *spot* de urina consiste na obtenção de uma amostra pontual de urina dentro de um período de 24 horas se tornando menos invasiva que a coleta total onde necessita que os animais estejam sondados (Silva Júnior, 2018; Valadares et al., 1999).

Pesquisas têm sido realizadas para estimar o volume urinário diário a partir do uso da coleta *spot* correlacionada com a creatinina como indicador do volume urinário. 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).

Como a excreção de creatinina na urina é relativamente constante em função do peso corporal, esta tem sido utilizada como um indicador da produção urinária em animais confinados (Chizzotti et al., 2007), e mantidos em pastejo (Silva Júnior et al., 2021).

Além de indicar o volume urinário por meio da creatinina, tem sido feita algumas relações a partir das concentrações dos derivados de purina e compostos nitrogenados que são excretados via urina com a creatinina para servir como indicadores da quantidade de N microbiano que chega ao duodeno (Chen e Gomes, 1992).

Pereira (2009) avaliando o efeito da hora da coleta de urina, realizando coleta

spot de urina, sobre a relação DP:creatinina, em novilhas Nelore em confinamento, de duas em duas horas (com dois dias de coleta), não encontrou diferença do horário de coleta sobre a relação DP:creatinina. No trabalho de Whittet et al. (2019), foi avaliado a influência da idade, dieta e gravidez de novilhas e vacas na excreção de creatinina e constaram uma mínima influência, indicando a creatinina como um marcador do volume urinário e predição da excreção de DP, embora recomendando vários dias de coleta para uma estimativa precisa de PD:C. Já Silva Júnior et al. (2021), não observaram variação nas relações da creatinina com os derivados de purinas, constatando que uma única amostra de urina coletada em qualquer hora do dia pode ser usada para uma estimativa precisa.

Em relação aos compostos nitrogenados, Pereira (2009), avaliando o efeito da hora da coleta de urina sobre a relação nitrogênio total:creatinina e ureia:creatinina em animais confinados observou variação na excreção de compostos nitrogenados ao longo do dia. Silva Júnior et al. (2021) verificaram, em novilhas mantidas a pasto, que a relação entre nitrogênio total:creatinina e nitrogênio ureico:creatinina apresentaram efeito do período de coleta ao longo do dia, e recomendaram duas coletas *spot* de urina, quatro horas antes e após o fornecimento do suplemento.

Diante disso, a hipótese do presente estudo é que a coleta total de urina pode ser substituída pela coleta pontual de urina, ou coleta *spot*, para estimar a excreção de DP e CN em novilhas suplementadas com diferentes níveis de ureia, em pastejo. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a excreção de DP e CN, suas relações com a creatinina em animais mantidos a pasto e suplementados com diferentes níveis de ureia, e encontrar um esquema de coleta *spot* para substituir a coleta total de urina para estimar a excreção de DP e compostos nitrogenados em pastejo.

3. Material e métodos

3.1 Animais, manejo e delineamento experimental

O experimento foi conduzido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, durante a época seca do ano, entre junho a setembro de 2022. Todos os procedimentos realizados no presente estudo seguiram protocolo aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da própria instituição (021/2021).

Foram utilizadas cinco novilhas Nelore fistuladas e canuladas no rúmen, com peso corporal (PC) médio inicial de 435kg e 24 meses de idade. As unidades experimentais foram mantidas em piquetes individuais de aproximadamente meio hectare cada, dotados de bebedouros e comedouros com pastagem constituída de capim *Brachiaria decumbens*.

Antes do início da fase experimental, os animais passaram por um período de adaptação de 14 dias as dietas, piquetes e condução ao tronco de contenção. Os cinco tratamentos experimentais foram baseados na utilização de suplemento proteico energético com 25% de proteína formulado com diferentes níveis de ureia na matéria seca (0, 1, 2, 3 e 4%).

O suplemento foi fornecido uma única vez ao dia, no horário das 12h, em uma quantidade diária de 4 g/kg de PC do animal. Essa quantidade de suplemento ofertado foi destinada aos animais que passaram por uma estação de monta tardiamente, objetivando a manutenção do peso corporal dos mesmos, durante a época seca do ano. O sal mineral esteve presente na forma *ad libitum* para todos os tratamentos. A composição dos ingredientes, as proporções dos tratamentos, composição do sal mineral e a qualidade do pasto podem ser vistos na Tabela 1.

O delineamento experimental adotado foi um quadrado latino 5x5, compreendendo cinco períodos e cinco unidades experimentais. Cada um dos cinco períodos experimentais teve duração de 18 dias, sendo 14 de adaptação a dieta experimental, tres dias para coletas de urina total e fezes e o ultimo dia para coleta de urina *spot*, líquido ruminal e sangue.

Tabela 1. Proporções dos ingredientes nos concentrados e composição química do suplemento e do pasto com base na matéria seca

Ingredientes (%)	Tratamentos ¹					Pasto
	UR0	UR1	UR2	UR3	UR4	
Milho fubá	54,0	59,7	65,3	70,9	76,5	-
Farelo de soja	46,0	39,3	32,7	26,1	19,5	-
Ureia/Sulfato de amônia	0	1	2	3	4	-
	Composição bromatológica (g/kg)					
Matéria seca	893	897	902	906	910	632 ± 14,1
Matéria organiza	960	964	968	971	975	914 ± 1,6
Proteína Bruta	252	249	247	245	243	61,2 ± 1,3
NNP ²	53	71,8	111	126	164	26,2 ± 7,8
PDR ³	172	182	193	203	213	36,9 ± 7,9
PNDR ⁴	79	69	59	49	40	52,1 ± 5,5
FDN _{cp} ⁵	115	114	113	112	111	696 ± 4,1
CNF ⁶	570	591	612	633	654	144 ± 25
FDN _i ⁷	18	18	19	19	20	374 ± 4,7

¹Tratamentos: UR0: sem ureia/Sulfato de amônia, UR1: 1 % de ureia/Sulfato de amônia, UR2: 2% de ureia/Sulfato de amônia, UR3: 3% de ureia/Sulfato de amônia, UR4: 4% de ureia/Sulfato de amônia, ²Nitrogênio não proteico, ³Proteína degradável no rúmen, ⁴Proteína

não degradável no rúmen,⁵ Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína,⁶Carboidrato não fibroso,⁷Fibra indegradável em detergente neutro. Sal mistura mineral: Fosfato bicálcico (50%), sal comum (42,1%), flor de enxofre (3,3%), óxido de magnésio (1,6%), sulfato de zinco (0,85%), sulfato de cobre (0,7%), óxido de manganês (0,2%), sulfato de cobalto (0,05%), iodato de potássio (0,05%), selenito de sódio (0,009%).

3.2 Coletas e preparo das amostras

No primeiro dia de cada período experimental, foi realizada a pesagem dos animais afim de ajustar a quantidade de suplemento fornecido por meio do PC de cada animal. Para eliminar possíveis efeitos de piquetes e tratamentos, os animais foram rotacionados entre eles (piquetes e tratamentos) de forma a permitir que os animais passassem por todos os piquetes e por todos os tratamentos sem que houvesse repetição entre si.

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, selecionada de forma aleatória em cada piquete experimental.

Foi realizada a simulação de pastejo em cada piquete durante o 14º e 18º dia de cada período experimental para avaliação qualitativa do pasto, estimacão do consumo e dos coeficientes de digestibilidade. As amostras foram pesadas e levadas à estufa com circulação forçada de ar (55 °C) e moída em moinho de facas em peneiras de 1 e 2 mm.

Para estimar a excreção da 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 via abertura da cânula ruminal às 12h a partir do 8º dia de cada período experimental por 10 dias consecutivos. 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 (8h00, 12h00; 16h00; 20h00; 24h00 e 4h00) entre o 15º a 17º dia de cada período experimental.

A coleta total de urina foi realizada entre o 15º aos 17º dias de cada período experimental, com amostragem a cada 4h nos seguintes horários: 04:00h-08:00h, 08:00h-12:00h, 12:00h- 16:00h, 16:00h-20:00h, 20:00h-0:00h e 24:00h-04:00h. No 18º dia experimental foi realizada a coleta *spot* de urina, nos mesmos horários já

descritos para coletas de fezes.

Para a coleta total de urina foi utilizada sonda de Folley nº 26 com duas vias contendo um balão de 50 mL. Em uma das vias da sonda foi acoplada uma mangueira de polietileno que serviu para conduzir a urina, por meio de um sistema fechado, até em uma bolsa coletora de polietileno com capacidade máxima de dois litros, no qual foi fixada pelo auxílio de cordas na região ventral, acima do peito do animal. Para esvaziamento da bolsa, os animais foram conduzidos ao tronco de contenção nos horários estipulados. A introdução da sonda nos animais foi feita no 15º dia de cada período a partir das 5 horas da manhã, passando a contabilizar o intervalo de 4h entre uma coleta e outra somente a partir das 8 horas da manhã.

No momento da amostragem da coleta de urina total, mediu-se o volume e efetuou a retirada de duas alíquotas: uma de 40 mL e outra de 8 mL que foi diluída em 32 mL de H₂SO₄ a 0,036 N para evitar precipitação do ácido úrico. Ambas as amostras tiveram o pH corrigido para valor menor que 3, com adição de ácido sulfúrico, para impedir o desenvolvimento de microrganismos, sendo, logo em seguida, armazenadas a -20°C até o momento de realizar as análises. A amostra de urina sem diluição foi utilizada para quantificação do nitrogênio total, e a amostra diluída para quantificação das concentrações de creatinina (C); ureia (U); alantoína (AL) e ácido úrico (AU).

As amostras fecais foram identificadas por animal, dia e hora, pesadas e secas em estufa com circulação forçada de ar (55 °C), sendo posteriormente moídas a 2 mm e a 1 mm para elaboração de uma amostra composta por animal em cada período experimental. Para realização das amostras compostas, foi pesado 3 gramas de cada amostra identificada para execução das análises, onde as compostas moídas a 2 mm serviram para avaliação da FNDi e às de 1 mm para quantificação da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) seguindo as recomendações descritas posteriormente.

A coleta de sangue foi realizada no último dia de cada período experimental, nos mesmos horários da coleta *spot* de urina, por punção da veia jugular, usando tubos com gel separador. Depois de coletadas, estas amostras foram centrifugadas a 3000 x g durante 15 minutos para retirada do soro sanguíneo para serem depositados em recipientes identificados e armazenados a -20°C para posterior

análise dos índices séricos de ureia.

Para estimativa da concentração de amônia ruminal foi coletado uma alíquota de 40 mL de líquido ruminal nos mesmos horários já descritos para coleta de urina spot e fezes, diretamente via fistulas ruminais, no qual foi adicionando 1 mL de ácido sulfúrico 1:1, armazenadas a -5°C para posteriores análises.

3.3 Análises laboratoriais

Nas amostras de forragem, fezes e suplemento, foram quantificados os teores de MS (método INCT-CA G-003/1), MM (método INCT-CA M-001/2), PB (método INCT-CA N-001/2), EE (método INCT-CA G-005/2), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}, método INCT-CA F- 002/2) e nitrogênio não proteico (NNP, método INCT-CA N-002/2). O teor de FDNi (método INCT- CA F-009/2), foi obtido pela incubação de amostras em sacos F57 (Ankom®) in situ por 288 horas como descrito por Valente et al. (2011) para forragens tropicais. A concentração de dióxido de titânio nas fezes foi estimada por colorimetria (Titânio, INCT-CA M-007/2), com base na razão entre o fornecido e sua concentração na amostra fecal.

As quantificações de creatinina, ácido úrico (AU) e ureia (U) na urina, 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. As concentrações de ureia sérica foram realizadas pelo mesmo equipamento mencionado, a análise de alantoína (AL) foi realizada pelo método colorimétrico descrito por Chen e Gomes (1992), no Laboratório de Nutrição Animal (LABNUR) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, a quantificação do nitrogênio urinário (NU) seguiu mesma técnica descrita para PB e a concentração de N amoniacal no rúmen (NAR) foi estimada por colorimetria (método INCT-CA N- 006/1).

3.4 Cálculos

A MSpd foi estimada conforme Paulino et al. (2008): $Mspd = 0,98 \times (100 - FDN) + (FDN - FDNi)$.

A excreção de MS fecal foi estimada baseada na relação entre a quantidade de indicador fornecido e sua concentração no material fecal MS fecal excretada (kg/dia) = dióxido de titânio fornecido (g) / concentração do indicador nas fezes (g/kg) x 100.

A quantificação dos carboidratos não fibrosos (CNF) foi realizada de acordo com Detmann e Valadares Filho (2010): $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ da ureia} + \% \text{ de ureia}) + \% FDNcp + \%EE + \%MM]$.

Para estimar os nutrientes digestíveis totais (NDT) utilizou-se a equação:

$$NDT = \%PB \text{ dig} + \%FDNcp \text{ dig} + \%CNF \text{ dig} + \%EE \text{ dig} \times 2,25.$$

A ingestão de MS da forragem foi obtida pela equação: $MS \text{ total} = FDNi \text{ fecal (g/d)} - FDNi \text{ do suplemento (ing/d)} / FDNi \text{ do pasto (g/g)} \times 100$ utilizando para base de cálculo a amostra de pasto obtida via simulação de pastejo manual.

Nas amostras de urina, foi obtido valores por meio da presença de creatinina, NU, NUreia e DP analisa, sendo calculado a excreção de componente presente na urina por meio de multiplicando-se do volume urinário de cada período de coleta pelas respectivas concentrações de creatinina, NU, NUreia e DP, expressas em mmol por meio do valor da massa molar de cada constituinte.

A concentração de N ureico (NUreia) foi obtida a partir da concentração de ureia multiplicada por 0,467 que representa a porcentagem de N na ureia.

As relações dos DP, AL e AU, NU e NUreia com a creatinina foram calculadas (AL:creatinina, AU:creatinina, NU:creatinina, NUreia:creatinina, respectivamente) por período de quatro horas e nas amostras *spot* de urina.

De acordo com Barbosa et al. (2011), foi possível calcular as purinas absorvidas (PA) (Y, mmol/dia) a partir da excreção de derivados de purinas (X, mmol/dia), por intermédio da equação: $PA = (DP - 0,301 \times PC^{0,75}) / 0,80$ 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

A síntese de CN microbianos no rúmen (Nmic, g/dia) foi calculada em função das PA (mmol/dia), de acordo com Barbosa et al. (2011): $Nmic = 70 \times PA / 0,93 \times 0,137 \times 1000$ 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 verdadeira das purinas microbianas.

3.5 Procedimento estatístico

O experimento foi realizado em delineamento de quadrado latino 5×5 com efeito fixo para tratamento (níveis de ureia) e efeitos aleatórios para animal e períodos experimentais. Os resultados estatísticos contaram com a utilização do programa SAS University Edition utilizando o procedimento MIXED, adotando 5% para o controle do erro tipo I.

O procedimento MIXED com teste de contrastes ortogonais foi utilizado para gerar os dados referente aos consumos e digestibilidades. Para o caso dos efeitos cúbicos e de quarto grau não serem significativos, os mesmos não serão apresentados na composição das tabelas. Para as amostras de urina correspondente ao intervalo de 4 horas, os dados foram avaliados em esquema de medidas repetidas no tempo, utilizando-se estrutura de (co)variância do tipo simetria composta (Kaps e Lamberson, 2004) contando com o critério de informação de Akaike com correção e graus de liberdade estimados de acordo com o método Kenward-Roger. Quando necessário, as médias foram comparadas usando diferença mínima significativa de Fischer.

Para determinação da comparação entre as amostras provenientes de coleta total de urina, contando com amostragem a cada quatro horas, e de amostras *spot* de urina, foi utilizado o procedimento MIXED (para os modelos lineares) do SAS University Edition. Com esse procedimento foi possível determinar a inclinação, que indica o coeficiente de regressão de uma reta, e o intercepto, indicador do local onde a reta regressora cruza um eixo. Essa inclinação e o intercepto definidos pela relação linear entre essas duas variáveis (coleta total x coleta *spot* de urina), permitiu a observação para quando apresentar diferença significativa entre as duas formas de coleta de urina estudadas.

A escolha da melhor forma de coleta *spot* de urina foi realizada utilizando a raiz quadrada do quadrado médio do erro da predição (QMEP) e a partição do quadrado médio do erro de predição em vício médio, vício sistemático e erro aleatório. Os cálculos realizados para a estatística da avaliação da comparação entre as formas de coleta estudadas foram realizados utilizando-se o MES - Model Evaluation System (<http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm>, College Station, TX, USA; Tedeschi, 2006).

4. Resultados

As médias de consumo para os nutrientes representados em kg/d e g/kgPC encontram-se na Tabela 2, e não tiveram efeito linear ou quadrático, sendo não significativo ($P>0,05$) para os níveis de 0, 1, 2, 3 e % de ureia de cada tratamento da suplementação ofertada para bovinos de corte mantidos a pasto durante o período seco do ano. representado em cada tratamento.

Tabela 2. Médias, probabilidade (Valor P) e erro padrão da média (EPM) dos efeitos de tratamento sobre as variáveis de ingestão dos nutrientes para bovinos de corte recebendo suplementação com diferentes níveis de ureia durante a época seca do ano

Item	Trata				EPM	Valor P		
	UR0	UR1	UR3	UR4		Linear	Quadrático	
Ingestão kg/d								
MS	5,36	5,73	5,18	5,36	4,96	0,357	0,318	0,554
MSp	3,82	4,18	3,61	3,78	3,38	0,350	0,265	0,554
MSs	1,54	1,55	1,56	1,58	1,58	-	-	-
PB	0,64	0,63	0,61	0,62	0,59	0,035	0,363	0,881
FDNcp	2,72	3,14	2,78	2,80	2,48	0,232	0,274	0,231
MOdig	2,68	2,59	2,34	2,56	2,50	0,199	0,557	0,483
NDT	2,72	2,66	2,44	2,70	2,66	0,204	0,912	0,496
Ingestão g/kgPC								
MS	12,5	13,5	11,8	12,3	11,3	0,813	0,159	0,596
MSp	8,95	9,85	8,22	8,64	7,69	0,805	0,158	0,594
FDNcp	6,39	7,40	6,32	6,39	5,65	0,514	0,161	0,256

Matéria seca (MS), MS do pasto (MSp), MS do suplemento (MSs), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), FDNcp digerida (FDNcpdig), matéria orgânica digerida (MOdig), nutrientes digestíveis totais (NDT). Tratamentos: suplemento com 25% PB com diferentes níveis de ureia (UR): 0% (UR0), 1% (UR1), 2% (UR2), 3% (UR3) e 4% (UR4).

A suplementação influenciou a concentração de NAR e de NUS em horários específicos ($P<0,05$) no período de 24 horas (Tabela 3). Ao longo desse período de 24 horas, os níveis de ureia proporcionou um pico de NAR quatro horas após a suplementação (16 horas), influenciando no pico de NUS para os horários de 16 e 20h em cada tratamento.

Maiores concentrações de NAR foram observadas nos tratamentos que possuem 3 e 4% (UR3 e UR4) de ureia às 16h seguido pelo tratamento UR2, UR1 e UR0 ($P=0,029$), sendo que o UR0 não diferiu estatisticamente do UR1. Para as concentrações de NUS, os tratamentos UR3 e UR4 foram maiores que UR2, UR1 e UR0 às 16h ($P=0,017$) e às 20h ($P=0,024$) (Tabela 3).

Tabela 3. Médias e probabilidades (Valor P) do efeito de tratamento sobre o pool de nitrogênio amoniacal no rúmen (NAR) e nitrogênio uréico no soro (NUS) em função da hora de coleta.

HORA	Tratamento					Valor P ¹
	UR0	UR1	UR2	UR3	UR4	
NAR (mg/100 mL)						
12	8,05b	9,61b	8,01b	8,90b	8,23b	0,622
16	12,3aC	13,8aBC	16,5aB	19,7aA	18,2aA	0,029
20	8,51b	8,08b	7,74b	9,01b	9,49b	0,741
0	7,82b	6,95b	6,69c	7,46b	8,00b	0,703
4	7,78b	8,43b	6,65c	8,04b	7,20b	0,786
8	8,75b	8,88b	9,64b	9,60b	8,23b	0,976
Valor P ²	0,018	0,005	<0,001	<0,001	<0,001	EPM = 1,185
NUS (mg/100 mL)						
12	11,2b	10,6c	9,85c	11,1bc	10,3c	0,954
16	12,9aB	14,4aAB	13,9aB	15,7aAB	16,2aA	0,017
20	12,4abB	13,1bB	13,3aB	15,1aAB	15,5aA	0,024
0	11,8b	11,8bc	11,5b	12,6b	11,6b	0,427
4	11,5b	11,8bc	10,8b	12,0bc	12,1b	0,886
8	11,4b	10,7c	10,4b	10,9c	11,7b	0,764
Valor P ²	0,027	0,045	0,004	<0,001	<0,001	EPM = 1,172

*Médias na mesma coluna seguidas por letras minúsculas diferentes, diferem entre si (P<0,05). Médias na mesma linha seguidas por letras maiúsculas diferentes, são diferentes entre si (P<0,05). ¹Efeito de tratamento dentro da hora de coleta; ²Efeito da hora de coleta dentro de tratamento). Tratamentos: suplemento com 25% PB com diferentes níveis de ureia (UR): 0% (UR0), 1% (UR1), 2% (UR2), 3% (UR3) e 4%(UR4).

A ingestão de nitrogênio (N), bem como o N excretado nas fezes e urina, NUreia, relação NUreia:NU, N retido, excreções de derivados de purinas (AL e AU) e nitrogênio microbiano não foram influenciados pelos níveis de ureia no suplemento (P>0,05) (Tabela 4).

Tabela 4. Médias, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (Valor P) do efeito de tratamentos sobre as variáveis de balanço de nitrogênio, Nitrogênio ingerido (NI), excreção de nitrogênio fecal (NFe), N urinário (NU), nitrogênio ureia na urina (NUreia), taxas NUreia:NU, N retido (NR), excreções de alantoína (AL), ácido úrico (AU) e derivados de purinas (DP), e síntese de nitrogênio microbiano (NM)

Item	Tratamentos*					EPM	Valor P	
	UR0	UR1	UR2	UR3	UR4		Linear	Quadrático
NI (g/d)	101	106	97	99	94	12,4	0,352	0,870
NFe (g/d)	36,1	37,1	35,2	35,7	34,6	2,4	0,352	0,870
NU (g/d)	43,5	46,0	46,8	43,9	45,2	17,0	0,959	0,842
NU (mmol/d)	3110	3287	3348	3136	3233	1215	0,959	0,842
UreaN (g/d)	18,6	20,2	23,1	19,9	19,0	3,6	0,945	0,093
UreaN (mmol/d)	1333	1448	1650	1422	1359	262	0,945	0,093
UreaN:NU	0,42	0,44	0,49	0,45	0,42	0,2	0,666	0,888
NR (g/d)	21,9	23,2	14,9	19,9	14,2	2,1	0,564	0,984
AL (mmol/d)	72,1	74,5	75,7	76,6	78,8	3,5	0,176	0,954
	6,15						0,208	0,791
AU (mmol/d)	78,2	6,0	7,0	6,6	7,01	0,3	0,147	0,938
DP (mmol/d)		80,5	82,7	83,2	85,8	4,481		

Nmic (g/d)	38,7	39,6	41,9	42,5	41,4	5,766	0,654	0,788
------------	------	------	------	------	------	-------	-------	-------

*Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes, são diferentes entre si ($P < 0,05$). Tratamentos: suplemento com 25% PB com diferentes níveis de ureia (UR): 0% (UR0), 1% (UR1), 2% (UR2), 3% (UR3) e 4% (UR4).

O volume urinário não foi influenciado pelos tratamentos, dias de coleta e nem período de coleta ($P > 0,05$) ou suas interações ($P > 0,05$; Tabela 5), com excreção média de 1,13 litros a cada 4 horas. A excreção de creatinina em mg/kg PC (Tabela 5) não foi afetada pelos tratamentos, dias de coleta, período de coleta, ou suas interações ($P > 0,05$). O conteúdo de creatinina a cada 4 horas se deu em média de 3,82 mg/kg e a excreção de creatinina diária foi de $22,94 \pm 0,22$ mg/kg/PC.

Tabela 5. Volume urinário e excreção de creatinina (Cre) em função do período de coleta (PC), por 4 horas, e probabilidade (Valor P) e desvio padrão da média (sxy) para os efeitos dos dias de coleta (DC), PC, tratamentos (Tra) e suas interações em bovinos de corte mantidos a pasto

		Período de Coleta							
		0h00-4h00	4h00-8h00	8h00-12h00	12h00-16h00	16h00-20h00	20h00-24h00		
Volume urinário (L)		1,04	1,04	1,13	1,27	1,11	1,22		
Cre (mg/kg PC)		3,74	3,64	3,68	3,73	3,90	4,25		
		Valor P (efeitos)							
		Tra	DC	PC	DC x Tra	Tra x PC	DC x PC	Tra x DC x PC	sxy
Volume urinário (L)		0,518	0,713	0,101	0,421	0,940	0,905	0,988	0,329
Cre (mg/kg PC)		0,223	0,086	0,153	0,698	0,947	0,698	0,766	0,738

A excreção de creatinina em mmol (Tabela 6), não foi afetada ($P > 0,05$) pelos tratamentos, dias de coleta e período de coleta, ou suas interações, apresentando uma concentração média de 14,7 mmol a cada 4 horas. Da mesma forma, as excreções de AL, AU e DP, em mmol, bem como as relações entre AL, AU e DP com a creatinina, também não foram influenciados pelos tratamentos, dias de coleta, período de coleta ou suas interações ($P > 0,05$).

Na Tabela 7, as excreções de NU e NUreia foram influenciadas pelos períodos de coleta ($P < 0,001$), no entanto, não foram afetadas pelos níveis de ureia (tratamentos), dias de coleta e suas interações ($P > 0,05$). A excreção de NU foi superior para os períodos de coleta de 16h00-20h00, 20h00-24h00 e 24h00-4h00 que os demais horários avaliados, já a excreção de NUreia foi superior para os períodos de coleta de 16h00-20h00 e 20h00-24h00, intermediária para os horários 0h00-4h0, 4h00-8h00 e 12h00-16h00 e inferior para o horário de 8h00-12h00. As relações NU:creatinina e NUreia:creatinina na urina não foram influenciadas pelos tratamentos, dias da coleta, período de coleta e suas interações ($P > 0,05$).

Os resultados obtidos para excreção de creatinina provenientes da coleta total de urina a cada 4 horas durante três dias em seis horários, não diferiram ($P > 0,05$) da excreção de creatinina com amostras *spot*, obtidas em momentos pontuais (Tabela 8). As relações entre AL:creatinina, AU:creatinina e NU:creatinina não apresentaram variação entre a avaliação comparativa da coleta total de urina com a coleta *spot* ($P > 0,05$), porém, a relação NUreia:creatinina apresentou variação ($P < 0,05$) em sua excreção no horário de 4 horas ($P < 0,001$).

Não havendo diferença entre a comparação da coleta total de urina com a coleta *spot*, foi possível realizar a combinação da média entre duas amostras dos dois métodos mencionados com amostragem a cada 4 horas, o qual pôde obter entre os horários das 8h e das 16 horas uma menor variação no quadrado médio dos erros de predição (QMPE) para as variáveis NUreia:Cre (9,00) e NU:Cre (28,6) (Tabela 9).

Tabela 6. Excreção de creatinina (Cre), alantoina (AL), ácido úrico (AU) e derivados de purinas (DP), em mmol, e as relações AL:Cre, AU:Cre e PD:Cre em função do período de coleta (PC), por 4 horas, e seus valores de probabilidade (Valor P) e desvio padrão da média (sxy) sobre efeitos dos dias coleta (DC), PC e tratamentos (Tra)

	Período de coleta							
	0h00-4h00	4h00-8h00	8h00-12h00	12h00-16h00	16h00-20h00	20h00-24h00		
Cre (mmol)	14,5	14,1	14,2	14,3	15,1	16,4		
AL (mmol)	12,7	12,0	12,6	12,4	12,0	14,0		
AU (mmol)	1,25	1,13	1,02	0,99	1,07	1,11		
PD (mmol)	13,9	13,1	13,6	13,5	13,1	15,2		
AL:Cre	0,87	0,86	0,91	0,88	0,81	0,87		
AU:Cre	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08		
PD:Cre	0,95	0,94	0,98	0,96	0,88	0,94		
Valor P								
	Tra	DC	PC	DC x Tra	Tra x PC	DC x PC	Tra x DC x PC	sxy
Cre (mmol)	0,195	0,104	0,091	0,759	0,955	0,725	0,765	2,864
AL (mmol)	0,924	0,086	0,323	0,118	0,812	0,467	0,849	3,633
AU (mmol)	0,678	0,094	0,097	0,239	0,990	0,693	0,637	0,305
PD (mmol)	0,910	0,127	0,289	0,115	0,832	0,473	0,832	3,854
AL:Cre	0,566	0,427	0,674	0,608	0,938	0,459	0,997	0,246
AU:Cre	0,557	0,228	0,592	0,184	0,991	0,534	0,994	0,019
PD:Cre	0,556	0,365	0,708	0,567	0,942	0,468	0,997	0,259

Tabela 7. Nitrogênio urinário (NU), excreção de nitrogênio ureia na urina (NUreia), em mmol, e as relações com a creatinina (Cre), NU:Cre e UreiaN:Cre, em função dos períodos de coleta (PC), por 4 horas, e seus valores de probabilidade (Valor P) e desvio padrão da média (sxy) para os efeitos de dia de coleta (DC), PC e tratamentos (Tra) e suas interações

	Período de coleta						Valor P	
	0h00-4h00	4h00-8h00	8h00-12h00	12h00-16h00	16h00-20h00	20h00-24h00		
NU	858a	806b	819b	811b	892a	929a	<0,001	
NUreia	476b	451b	434c	451b	505a	539a	<0,001	
NU:Cre	60,0	58,9	58,7	57,8	61,4	57,8	0,871	
NUreia:Cre	32,6	32,7	30,8	31,8	34,2	33,4	0,367	
Valor P (efeitos)								
	Tra	DC	PC	DC x Tra	Tra x PD	DC x PC	Tra x DC x PC	sxy
NU	0,670	0,498	0,015	0,223	0,948	0,941	0,636	139
NUreia	0,394	0,138	<0,001	0,240	0,437	0,432	0,343	85,5
NU:Cre	0,403	0,280	0,871	0,733	0,918	0,917	0,856	11,9
NUreia:Cre	0,827	0,235	0,367	0,977	0,867	0,917	0,870	6,13

*Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes, são diferentes entre si ($P < 0,05$). Tratamentos: suplemento com 25% PB com diferentes níveis de ureia (UR): 0% (UR0), 1% (UR1), 2% (UR2), 3% (UR3) e 4% (UR4).

Tabela 8. Intercepto, inclinação, desvio padrão (sxy) e Valor P da correlação entre as amostras de urina obtidas por coleta total de urina (CT) e a coleta *spot* de urina

Variável	CT	Intercepto	Valor P	Inclinação	Valor P	Sxy
Cre	12	0,274	0,718	1,138	0,083	3,972
	16	0,353	0,592	1,181	0,093	3,631
	20	0,396	0,132	0,542	0,921	4,447
	0	0,231	0,198	1,386	0,482	5,039
	4	1,299	0,964	1,266	0,082	3,380
	8	1,197	0,181	1,385	0,449	4,132
AL:Cre	12	0,375	0,158	1,387	0,677	0,624
	16	0,437	0,235	0,619	0,193	0,261
	20	1,245	0,225	1,470	0,535	0,419
	0	0,821	0,082	1,934	0,167	0,398
	4	0,426	0,435	0,582	0,328	0,421
	8	0,115	0,172	1,118	0,885	0,578
AU:Cre	12	0,011	0,597	0,685	0,092	0,020
	16	0,011	0,576	1,027	0,110	0,020
	20	0,013	0,728	0,787	0,130	0,029
	0	0,015	0,400	1,141	0,100	0,017
	4	0,054	0,458	0,152	0,511	0,008
	8	0,024	0,368	0,567	0,092	0,017
NU:Cre	12	0,274	0,628	0,605	0,499	29,274
	16	0,361	0,375	0,541	0,381	19,762
	20	1,211	0,074	0,703	0,406	26,436
	0	0,943	0,836	1,048	0,183	25,479
	4	0,286	0,424	0,620	0,259	16,750
	8	1,104	0,099	0,756	0,395	27,916
NUreia:Cre	12	0,225	0,106	0,181	0,583	6,847
	16	0,315	0,170	0,076	0,746	4,623
	20	0,386	0,124	0,112	0,667	5,276
	0	0,264	0,253	0,164	0,462	4,352
	4	0,332	0,001	0,403	0,142	3,012
	8	0,249	0,153	0,115	0,520	3,517

Creatinina (Cre) e as suas relações com alantoína (AL:Cre), ácido úrico (AU:Cre), nitrogênio urinário (NU:Cre) e nitrogênio ureia na urina (NUreia:Cre).

Tabela 9. Médias ajustadas para as relações de nitrogênio urinário (NU) e nitrogênio ureia na urina (NUreia) com a creatinina (Cre), NU:Cre e NUreia:Cre, em mmol, e o intercepto, coeficiente de regressão (slope), desvio padrão (sxy), Valor P, quadrado médio de predição de erros (QMPE), e a percentual absoluta e de decomposição das correlações entre as amostras de urina obtidas por coleta total a cada 4 horas e a média de duas amostras *spot* de urina

Variável	CT	Média	Intercepto	Valor P	Inclinação	Valor P	Sxy	QMPE	Decomposição percentual		
									MB	UV	UC
NUreia:Cre	8/12	28,63	0,248	0,190	0,113	0,555	3,881	8,941	39,11	9,00	51,88
	8/16	31,40	0,287	0,077	0,081	0,615	3,230	6,094	6,99	3,98	89,02
	12/16	31,63	0,313	0,080	0,000	0,981	3,768	6,536	4,48	4,68	90,83
NU:Cre	8/12	64,33	0,746	0,094	0,173	0,765	19,417	21,088	5,40	33,25	60,287
	8/16	67,30	0,775	0,101	0,172	0,779	19,358	20,526	6,85	43,60	49,54
	12/16	66,43	0,381	0,266	0,476	0,350	17,394	25,522	5,93	48,32	45,73

*CT: Período de coleta.

5. Discussão

A matéria seca potencialmente digestível (MSpd) referente aos cinco períodos experimentais contou com uma quantidade de 1294,98 kg/ha, possibilitando uma disponibilidade média de 46,6 gMSpd/kg de PC/dia e encontra-se dentro da recomendação de Paulino et al. (2004) de 40 a 50g/kg do PC de oferta de MSpd de pasto para um desempenho satisfatório.

O consumo de NDT não foi influenciado pelos os tratamentos. No entanto, a forragem provavelmente tenha proporcionado um fornecimento de nutrientes digestíveis mesmo nos níveis mais baixos de NNP ofertado, pois foi obtido valores semelhantes aos níveis mais elevados de ureia na suplementação. Situação similar foi encontrada por Sales et al. (2008), onde o consumo de NDT não foi influenciado pelo nível de concentrado das dietas, ao trabalhar com suplementação múltipla com diferentes níveis de energia na fase de terminação de bovinos mantidos a pasto.

Com o aumento do fornecimento de ureia no suplemento, não se verificou aumento no consumo de forragem, apesar de ter sido verificado aumento na concentração de amônia ruminal, principalmente nos níveis mais elevados de ureia no suplemento. Possivelmente, a qualidade do pasto (tabela 1) associada a quantidade de suplemento ofertado não foi suficiente para promover aumento no consumo dos animais devido, podendo ter ocorrido uma baixa assimilação da amônia (NH₃) ruminal para o desenvolvimento dos microrganismos celulolíticos que fazem uso prioritário da amônia para seu crescimento e posterior degradação do alimento ingerido pelos animais (Russell et al., 1992)

A concentração de NAR para o horário de 16 horas alcançou resultados semelhantes aos recomendados por Detmann et al. (2009), para regiões tropicais, no qual relataram sobre a maximização do aproveitamento da fibra pelos microrganismos e aumento da ingestão de forragens tropicais, a concentração de amônia ruminal deve estar em torno de 15 mg/dL. A presença de maiores concentrações de NAR foi observada a partir da suplementação contendo 2% de ureia em virtude da maior ingestão de compostos nitrogenados na forma de ureia, que permitiu aumento da disponibilidade de nitrogênio ruminal (Santos e Pedroso, 2011).

Os teores de nitrogênio ureico no soro têm sido utilizados para obtenção de informações sobre o perfil da nutrição proteica de ruminantes, envolvendo suas

respostas metabólicas a determinadas dietas (Chizzotti et al., 2006). Valores entre 13,52 e 15,15 mg/dL, de NUS demonstram haver uma melhor eficiência na utilização da proteína (Valadares et al., 1997). No presente estudo, os tratamentos UR1, UR2, UR3 e UR4 tiveram valores semelhantes às concentrações citadas, influenciadas pela presença da ureia. Assim, devido a ingestão de CN na forma de ureia permite um aumento da disponibilidade de N ruminal e uma maior síntese de amônia promovendo aumento na concentração sérica de ureia (Santos e Pedroso, 2011).

Além disso, as concentrações de NAR e NUS corroboraram com a afirmativa de Russell et al. (1992) quando relataram que a maior produção de NH₃ e sua consequente absorção ruminal causa aumento das concentrações de nitrogênio ureico sérico, podendo afetar a excreção urinária de nitrogênio. Isto é decorrente da maior presença de amônia que excede a capacidade de assimilação pelos microrganismos, que por sua vez é absorvida pela parede ruminal (Nolan, 1993), levada pela corrente sanguínea ao fígado onde ocorre formação de ureia (Harmeyer e Martens, 1980) podendo ser reciclada ao rúmen por meio da saliva ou epitélio ruminal, ou resultar na maior perda de nitrogênio pela urina (Russell et al., 1992)

O NR foi positivo em todos níveis apresentados, indicando que houve retenção de proteína no organismo animal, proporcionando condições para que não ocorresse perda de peso dos animais experimentais (Pereira et al., 2007).

A produção de nitrogênio microbiano, não foi afetada pelos tratamentos, apresentado em média 40,82 g/dia de N_{mic}. Situação semelhante a este foi encontrado por Silva Junior et al. (2018), onde a produção de N_{mic} não apresentou efeito significativo entre os tratamentos com resultado em média de 45,35 g/dia.

A excreção diária creatinina por dia de 22,94 mg/kgPC, foi similar aquela encontrada por Silva Júnior et al. (2021) que observaram valores em torno de 23,01 ± 0,19 mg/kgPC ao trabalharem com novilhas a pasto em condições similares às realizadas nesse experimento. Assim como o presente trabalho, os referidos autores não encontraram efeito para tratamento, período de coleta e dia, sugerindo a constância da excreção de creatinina. Salienta-se que a mesma pode ser utilizada como indicador da estimativa do volume urinário em bovinos em pastejo. A falta de efeito obtido para o tratamento e dias de coleta está de acordo com Valadares et al. (1997), que relataram que a concentração de creatinina não é afetada em função da dieta consumida pelo animal, e que em confinamento, não encontraram diferenças nas excreções de creatinina obtidas durante 12, 24, 48 ou 72 horas de coleta. Já

para a falta de efeito do período de coleta, colabora com os resultados encontrados por Chizzotti et al. (2008), em que a excreção de creatinina estimada nos horários de coleta de 6, 9, 12, 15, 18 ou 21 h foi constante.

A falta de efeito para os dias e períodos de coleta não chegou a influenciar nas relações AL:creatinina, AU:creatinina e DP:creatinina, logo, a ausência de efeito estão de acordo com a literatura, uma vez que os resultados encontrado por Silva Júnior et al. (2018), utilizando o mesmo intervalo de tempo do presente estudo, não influenciou as relações descrita. Esse mesmo resultado foi encontrado novamente no trabalho de Silva Junior et al. (2021). Desta forma, devido à ausência de efeito de dias de coleta e períodos de coleta sobre as relações, pode-se afirmar que uma única coleta de urina obtida em um período de 4 horas, estima adequadamente a excreção dos DP na urina e conseqüentemente a síntese de proteína microbiana.

Entretanto, houve efeito de período de coleta para as excreções de NU e NUreia. A mesma oscilação desses compostos nitrogenados na urina foi observada por Pereira (2009) e Silva Junior et al. (2021), o que torna inviável a obtenção de apenas uma amostra de urina em um único tempo de coleta de 4 horas, uma vez que a excreção desses compostos, está diretamente relacionada aos teores de ureia e/ou de proteína bruta das dietas (Moraes, 2003; Valadares et al., 1997).

Não houve efeito da comparação dos dois métodos de coleta de urina realizada para as determinações da excreção de creatinina, DP e CN. Isto indica que a amostra *spot* de urina consegue estimar de forma satisfatória o volume urinário, as excreções de DP e de CN. Resultados nesse sentido foram encontrados por Chen et al. (1995), em estudo com ovinos submetidos a diferentes frequências de alimentação e por Silva et al. (2001) ao trabalharem com vacas lactantes com o objetivo de estimar a produção de proteína microbiana por meio da coleta de urina total e *spot*. Ambos não verificaram diferenças no período de coleta e nem nos tratamentos entre as concentrações das relações de creatinina e DP. Além desses estudos, outros autores, tais como Valadares et al. (1999), Oliveira et al. (2001) Rennó et al. (2008), Pereira (2009) e Silva Junior et al. (2021) utilizaram a coleta pontual de urina em seus trabalhos e chegaram à conclusão de que uma única amostra de coleta *spot* em qualquer hora do dia poderia estimar a excreção diária de DP na urina.

No entanto, como houve variação na excreção de compostos nitrogenados (NU e NUreia) na urina ao longo do dia, não permite que uma única amostra de

urina em um período de 4 horas seja realizada para estimar a excreção de compostos nitrogenados. Mais atenção deve ser dada a uma única coleta pontual de urina quando a intenção é estudar a excreção de compostos nitrogenados urinários. Assim, a obtenção de duas amostras na forma de *spot* de urina seria mais apropriada.

As amostras obtidas às 8 e 16 horas apresentaram menor variação no QMPE para as relações NUreia:creatinina e NU:creatinina em relação à coleta total de 4 horas, o que demonstra resultados mais precisos quando as amostras de urina *spot* são realizadas nesses horários, o que corrobora com os resultados encontrados por Silva Junior et al. (2021).

Conclusões

A excreção de creatinina é constante em um período de 24 horas podendo ser utilizada para estimar o volume urinário em bovinos em pastejo. Uma única coleta de *spot* de urina realizada em um período de 24h pode ser utilizada para estimar a excreção dos derivados de purinas. No entanto, para estimar a excreção dos compostos nitrogenados, recomenda-se a utilização de duas amostras de urina com coleta *spot*, às 8 e 16 horas.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Beef Report: Exportações de carne bovina**. Rio de Janeiro: ABIEC, 2023. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2023-capitulo-01/.PDF>. Acesso em: 28 de out. de 2023.

BARBOSA, A. M. et al. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p.510-519, 2011.

BORGES, A. L. C. C. et al. Valor nutritivo de silagem de milho, adicionada de uréia e carbonato de cálcio, e do rolão de milho. II - Consumo e digestibilidade de energia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, n.3, p.317-320. 1998

CASAGRANDE, D. R.; MORETTI, M. H.; REIS, R. A. Estratégias de suplementação de bovinos de corte e seus efeitos sobre a eficiência da terminação. **8th Symposium of beef cattle production**. Lavras, Brazil. p. 59, 2013.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. **Rowett Research Institute**, 1992.

CHEN, X. B. et al. 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. **Journal of Agricultural Science**. v. n. 125, p. 137–143, 1995.

CHIZZOTTI, M.L. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1813-1821, 2006.

CHIZZOTTI, M. L. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 138-146, 2007.

CHIZZOTTI, M. L. et al. Determination of creatinine excretion and evaluation of *spot* urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v. 113, n. 2-3, p. 218-225, 2008.

DETMANN, E. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1600-1609, 2001

DETMANN, E. et al. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science**. v. n. 126, p. 136-146. 2009

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, p.980-984, 2010.

HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.10, p.1707-1728, 1980.

HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de química fisiológica**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, p. 736, 1982.

HOFFMANN, A. et al Produção de Bovinos de Corte no Sistema de Pasto-Suplemento no Período Seco. **Nativa**, v. 2, p. 119-130, 2014.

MORAES, E.H.B.K. **Suplementos múltiplos para recria e terminação de novilhos mestiços em pastejo durante os períodos de seca e transição seca-águas**.

2003. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 2003.

MORAES, E. H. B. K. Exigências de proteína de bovinos anelorados em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 3, p. 601-607, 2010.

NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7th ed. National Acad. Press, Washignton: D.C, 1996

NOLAN, J. V. **Nitrogen kinetics**. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. Quantitative aspects of ruminant digestion an metabolism, 2. ed. CABl publishing, 1993. p.123-143.

OLIVEIRA, A. S. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos.

Revista Brasileira de Zootecnia, v. 30, p. 1621-1629, 2001.

PAULINO, Mário Fonseca et al. Suplementação de bovinos em pastagens: uma visão sistêmica. **Simpósio de produção de gado de corte**, v. 4, n. 2004, p. 93-139, 2004

PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. Suplementação animal em pasto: energética ou proteica. **Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem**, v. 3, n. 2006, p. 359-392, 2006.

PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VADARES FILHO, S.C. Bovinocultura funcional nos trópicos. **Simpósio de Produção de Gado de Corte**, v. 6, p. 275- 305, 2008.

PRADO, I. N. D. et al. Sistemas para crescimento e terminação de bovinos de corte a pasto: avaliação do desempenho animal e características da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 955-965, 2003

PEREIRA, K. P. et al. Balanço de nitrogênio e perdas endógenas em bovinos e bubalinos alimentados com níveis crescentes de concentrado. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 29, n. 4, p. 433-440, 2007.

PEREIRA, V. S. A. **Influência do peso corporal e das características de carcaça sobre a excreção de creatinina e utilização de coleta *spot* de urina para estimar a excreção de derivados de purinas e de compostos nitrogenados em novilhas Nelore**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

RENNÓ, L. N. et al. Níveis de ureia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por meio dos derivados de purinas na urina utilizando duas metodologias de coleta. **Revista Brasileira de Zootecnia** (Online), v. 37, p. 546-555, 2008.

REIS, R. A.; RODRIGUES, L. D. A.; PEREIRA, J. R. A. A suplementação como estratégia de manejo da pastagem. **Simpósio sobre Manejo da Pastagem**, v. 13, p. 123-150, 1997.

RUSSELL, J. B. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.

SALES, M. F. L. et al. Níveis de energia em suplementos múltiplos para terminação de novilhos em pastagem de capim-braquiária no período de transição águas-seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 724-733, 2008.

SANTOS, F. A. P.; PEDROSO, A. M. **Metabolismo de proteínas**. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de Ruminantes. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p.265-297.

SILVA, R. M. N. et al. Ureia para vacas em lactação: Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1948-1957, 2001.

SILVA JÚNIOR J. M. et al. Evaluation of collection days and times to estimate urinary excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in grazing Nelore cattle. **Livestock Science**, v. 217, p. 85-91, 2018.

SILVA JÚNIOR, J. M. et al. Estimating purine derivatives and nitrogen compound excretion using total urine collection or *spot* urine samples in grazing heifers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 105, n. 5, p. 861-873, 2021.

SOUZA, M. A.; DETMANN, E.; PAULINO, M. F. et al. Intake, digestibility and rumen dynamics of neutral detergent fibre in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. **Tropical Animal Health and**

Production, v. 42, p. 1299-1310, 2010.

SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-266, 1994.

TEDESCHI, L. O. **Model evaluation system** – MES. 2006 Disponível em: <http://nutritionmodels.com/index.html>. Acesso em: 28 de out. de 2023.

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

VALADARES, R. F. D. et al. Níveis de proteína em dietas de bovino, concentrações de amônia ruminal e ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.

VALADARES, R. F. D. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2686-2696, 1999.

VALADARES FILHO, S. C.; R. F. D. VALADARES. Teores de proteína em dietas de vacas de leite. **2th International symposium of dairy cattle**. v. 2, p. 1270-1278, 2001

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

WHITTET, K. M. et al. Factors affecting urinary creatinine in heifers and cows. **Translational Animal Science**, v. 3, n. 1, p. 532-540, 2019.