

DOUGLAS DOS SANTOS PINA

FONTES DE PROTEÍNA PARA VACAS EM LACTAÇÃO

Tese 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
2005

DOUGLAS DOS SANTOS PINA

FONTES DE PROTEÍNA PARA VACAS EM LACTAÇÃO

Tese 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 fevereiro de 2005.

Prof^a. Rilene Ferreira Diniz Valadares
(Conselheiro)

Prof. José Maurício de Souza Campos
(Conselheiro)

Prof. Edenio Detmann

Prof^a. Maria Ignez Leão

Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Aos meus país e avós, pelo carinho, apoio, compreensão e insistência.

Aos meus irmãos Pablo e Aiala dos Santos Pina, pela amizade e pelo apoio nos momentos mais difíceis.

AGRADECIMENTO

À Deus, pela vida,... e por tudo.

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa e ao CNPq.

Ao professor Sebastião de Campos Valadares Filho, pela orientação, pelos ensinamentos e boa vontade ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

À professora Rilene Ferreira Diniz Valadares, pela amizade, pelos conselhos e pelo esforço em participar da conclusão deste trabalho.

Ao professor José Maurício de Souza Campos, pelos conselhos e pelo aprendizado.

À professora Maria Ignez Leão, pelas sugestões, pela contribuição e pela amizade.

Ao professor Edenio Detmann, pelas sugestões, pelo imprescindível auxílio nas análises estatísticas e pela boa vontade em participar deste trabalho.

A secretária da Pós-Graduação Celeste, pela paciência em nós atender, pela dedicação e competência com a qual exerce sua função.

Aos alunos de Doutorado Mário Luís Chizztti e Mônica Lopes Paixão, aos bolsista de Iniciação Científica, Marcos, Mozart, Alexandre, Kamila, Leonardo e a estagiária Ana Paula, pela ajuda durante a fase de coleta de dados e manejo dos animais. Aos alunos de doutorado André Magalhães, Dorismar, André e Rafael, pela convivência.

Aos Funcionários do estábulo e do laboratório de nutrição de ruminantes pelo auxílio na condução deste trabalho.

Aos meus amigos da república, Jefferson, Alexon e Renato, pela convivência e amizade, também pelas festas. E a Cida, pela sua dedicação e paciência com todos os integrantes da república.

BIOGRAFIA

DOUGLAS DOS SANTOS PINA, filho de Evilázio José Pereira Pina e Tereza dos Santos Pina , nasceu em Leopoldina, Minas Gerais, em 04 de novembro de 1976.

Em agosto de 2003, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em agosto de 2003, iniciou o Curso de mestrado em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de tese em de 21 fevereiro de 2005.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	8
Consumo, Digestibilidade Aparente Total, Produção e Composição do Leite de Vacas Alimentadas com Diferentes Fontes de Proteína.....	12
Resumo	12
Abstract.....	13
Introdução.....	14
Material e Métodos	15
Resultados e Discussão	20
Conclusões	33
Referências Bibliográficas	34
Efeito de Indicadores e Dias de Coleta na Digestibilidade dos Nutrientes, Estimativa da Síntese de Proteína Microbiana e Concentrações de Uréia em Vacas Alimentadas com Diferentes Fontes de Proteína.....	37
Resumo	37
Abstract.....	38
Introdução.....	39
Material e Métodos	41

Resultados e Discussão	44
Conclusões	56
Referências Bibliográficas	57
Conclusões Gerais.....	60

RESUMO

PINA, Douglas dos Santos, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2005. **Fontes de proteína para vacas em lactação**. Orientador: Sebastião de Campos Valadares Filho. Conselheiros: Rilene Ferreira Diniz Valadares e José Maurício de Souza Campos.

Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa entre puras e mestiças, distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4, organizados de acordo com os dias em lactação, com o objetivo de avaliar o efeito de dois períodos de coleta de fezes (dois ou seis dias) em intervalos de 26 horas, de dois indicadores (fibra indigestível em detergente neutro (FDNi) ou ácido (FDAi)) e de dietas com diferentes fontes protéicas sobre os consumos e as digestibilidades dos nutrientes, a produção e composição do leite, a eficiência de síntese de proteína microbiana, calculada a partir da excreção urinária de derivados de purina, a concentração de nitrogênio uréico no plasma e no leite, o balanço de compostos nitrogenados e a concentração de nitrogênio amoniacal e o pH ruminal. As dietas foram constituídas de 60% de silagem de milho na base da MS total, mais os concentrados, os quais foram constituídos de diferentes fontes protéicas (FS - farelo de soja; FA38 – farelo de algodão 38%PB; FA28 - farelo de algodão 28%PB e FSU – farelo de soja mais 5% de uréia/sulfato de amônio na MS do concentrado). Os quatro períodos experimentais tiveram duração de 18 dias cada, sendo os últimos sete dias destinados às coletas de amostras. No 15^o dia do período experimental; foi coletada uma amostra de leite por animal em cada uma das ordenhas, para posteriormente originar uma amostra composta. No 18^o dia do período experimental foram coletadas, 4 horas após o fornecimento do alimento uma amostra *spot* de urina e uma amostra de sangue em cada um dos animais. O volume urinário médio diário foi obtido, admitindo-se a excreção total de creatinina de 24,4 mg/kg de PV. As comparações estatísticas foram sempre feitas em relação à dieta controle (FS).

Os consumos de matéria seca (MS) e de matéria orgânica (MO) não diferiram entre as dietas ($P>0,05$). Os consumos de proteína bruta (PB) foram maiores para a dieta contendo FA38, enquanto os de proteína degradada no rúmen (PDR) e de proteína não degradada no rúmen (PNDR) foram maiores e menores, respectivamente, com as dietas FA28 e FSU. Os consumos de extrato etéreo (EE) foram maiores com as dietas FA38 e FSU e menores para a dieta FA28, enquanto os de carboidratos não fibrosos (CNF) foram menores com as dietas FA38 e FA28. Os consumos de fibra em detergente neutro (FDN) foram maiores com as dietas FA38 e FA28 e os consumos de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram menores ($P<0,05$) com ambas as dietas em relação à dieta controle (FS). A excreção de matéria seca fecal foi superestimada e os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB, FDN e CNF foram subestimados pela FDAi, mas não houve efeito dos dias de coletas de fezes. Em relação à dieta controle, os CD da MS, MO e FDN foram menores ($P<0,05$) com as dietas FA38, FA28 e FSU, os CD da PB e do EE foram menores e maiores ($P<0,05$), respectivamente, com as dietas FA38 e FA28, e o CD do CNF foi menor ($P<0,05$) com a dieta com FSU. A produção de leite (PL) corrigida (PLG) ou não para 3,5% de gordura, o teor e a produção de gordura do leite não foram influenciados ($P>0,05$), mas a eficiência de utilização da MS e do nitrogênio dietético para a produção de leite, o teor e a produção de proteína do leite foram inferiores ($P<0,05$), com as dietas FA28 e FA38 em relação à dieta controle. Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) nas frações e na excreção total de derivados de purinas (PT), na síntese de proteína bruta (PB) microbiana (PBMIC) e na eficiência de síntese de PB microbiana expressa em g de PB/kg de NDT consumido. As concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) e no leite (NUL) também não diferiram ($P>0,05$) entre as dietas. Conclui-se que dois dias de coleta de fezes foram suficientes para estimar a digestibilidade dos nutrientes e os teores de NDT e que a FDNi foi mais precisa que a FDAi para estimar a produção de matéria seca fecal. Conclui-se também que o farelo de soja pode ser substituído pelo farelo de algodão 38% ou pela mistura de farelo de soja contendo 5% de uréia/sulfato de amônio na MS do concentrado, para vacas com produção média diária de 25 kg de leite, alimentadas com 60% de silagem de milho na base da MS total das dietas.

ABSTRACT

PINA, Douglas dos Santos, M.S. Universidade Federal de Viçosa, february of 2005.
Protein sources by cows in the lactation. Adviser: Sebastião de Campos Valadares Filho. Committee Members: Rilene Ferreira Diniz Valadares e José Maurício de Souza Campos.

Twelve Holstein and cross-bred dairy cows were used in this trial and were distributed in a three latin square design (4x4), according to days in milk, aiming at evaluate the effect of two periods of fecal collection was also evaluated (two or six days) in 26 hours intervals. The effect of two markers (insoluble neutral detergent fiber (NDFi) or insoluble acid detergent fiber indigestible (ADFi)) and of the diets with differents protein sources on intake, nutrients digestibility, milk production and composition, on efficiency of microbial protein synthesis, calculated by urinary excretion of purine derivatives, plasma (PUN) and milk (MUN) urea nitrogen concentration, ruminal ammonia concentration and pH. The A corn silage based diet (60% of the total dry matter) was used and the concentrate was formulated with different proteins sources (SM – soybean meal, CM38 – cottonseed meal with 38% of crude protein, CM28 - cottonseed meal with 28% of crude protein and SMU – soybean meal plus 5% of urea/ammonium sulfate in the concentrate dry matter). The four experimental periods lasted 18 days each, being the last seven days used to sample collections. Milk samples from each animal were collected twice (morning and afternoon) at the 15th day of each experimental period, and later were combined in order to obtain a composed sample. Urine (spot) and blood collections were accomplished at the 18th day of each experimental period, at approximately four hours after the morning feeding of the animals. The urinary volume (V) was estimated using 24,4mg/kg live weight of creatinine as a daily mean. The means comparisons were always made in relation to the control diet (SM). Dry matter (DMI) and organic matter intakes (OMI) didn't differ among diets ($P>0,05$), whereas crude

protein (CP) intake was larger to the CM38 diet. Rumen degradable (RDP) and undegradable protein intakes (RUP) were larger and smaller, respectively, to the CM28 and SMU diets. The intake of ether extract were larger to the CM28 and SMU diet and smaller to the CM28 diet, whereas non-fiber carbohydrates (NFC) and neutral detergent fiber (NDF) intakes were smaller and larger, respectively, to the CM38 and CM28 diets. Total digestible nutrients (TDN) intake was smaller ($P < 0,05$) in both diets, when compared to the control diet (SM). The fecal dry matter excretion (FDME) was overestimated and the digestibility coefficients of DM, OM, CP, NDF and NFC were underestimated by ADFi, but fecal collection days had no effect on the estimates. The DM, OM and NDF digestibility coefficients (DC) were smaller ($P < 0,05$) in the CM38, CM28 and FSU diets compared to the control diet. CP and EE digestibility were smaller and larger ($P < 0,05$), respectively, in the CM38, CM28 diets, while NFC digestibility was smaller ($P < 0,05$) in the SMU diet. Milk yield (MY), corrected or not for 3,5% of fat, milk fat concentration and production were not influenced ($P < 0,05$) by the different protein sources, albeit DM and nitrogen efficiency of use for milk production, milk protein concentration and production were lower ($P < 0,05$) in the diets formulated with cottonseed meal to the diet formulated with SM. Differences among diets for urinary volume (V), total excretion of purine derivatives (PT), microbial CP synthesis and efficiency of synthesis, expressed in g of CP/kg of intake TDN, were also not detected. PUN and MUN concentrations did not differ ($P > 0,05$) among the diets. It was concluded that two days of fecal collection were enough to estimate FDME and to obtain the nutrients digestibilities and the contents of TDN of the diets and that NDFi was the most precise marker than ADFi. Also it was concluded that dairy cows producing, on average, 25 kg/day, can be fed with diets containing 5% of urea in the dry matter of the concentrate or cottonseed meal with 38% CP, in situations where the roughage is composed by 60% (total dry matter basis) of corn silage.

Introdução

A nutrição envolve várias reações bioquímicas e processos fisiológicos que transformam os alimentos em tecidos corporais, produtos fisiológicos e atividades, conseqüentemente, ela envolve a ingestão, digestão e absorção dos vários nutrientes, seu transporte para as várias células corporais e a remoção dos produtos do metabolismo (Valadares Filho et al., 2000). Tentativas têm sido feitas para aumentar a disponibilidade de nutrientes para a produção de leite, por intermédio do aumento da ingestão de alimentos, da otimização da fermentação ruminal e da suplementação de nutrientes que escapam à degradação ruminal (Clarck et al., 1992).

O consumo de matéria seca é fundamentalmente importante na nutrição, porque ele estabelece a quantidade de nutrientes disponíveis para a saúde e produção animal (NRC, 2001). Por isso, a potencialização do consumo de matéria seca pelos animais é almejado pela maioria dos pesquisadores, devido à sua correlação com o desempenho produtivo dos animais.

Para Allen (1996), a produtividade de ruminantes depende da sua habilidade para consumir e extrair energia dos alimentos disponíveis. Segundo Forbes (2000), uma parte considerável da ingestão de matéria seca (IMS) é influenciada pelo requerimento de nutrientes, e uma estimativa aproximada da quantidade de alimento que o animal comerá, pode ser calculada a partir da quantidade de energia, proteína e demais nutrientes que esse requer para a sua manutenção e produção. Contudo, existem numerosos fatores que podem interferir na relação entre requerimento e ingestão. Características físicas e químicas dos ingredientes dietéticos e suas interações, podem ter um grande efeito na IMS de vacas lactantes, dentre essas : conteúdo de fibra, facilidade de hidrólise do amido e da fibra, fragilidade e tamanho de partículas, produtos de fermentação das silagens e quantidade e degradação ruminal da proteína dietética (Allen, 2000).

O conteúdo de proteína bruta (PB) das dietas está freqüentemente relacionado positivamente com a IMS de vacas lactantes, o mecanismo envolvido é presumivelmente uma redução no enchimento e um aumento na digestibilidade da matéria seca (Allen, 2000). Grings et al. (1991), trabalhando com quatro diferentes níveis de PB (13,8; 17,5; 20,4 e 23,9) como porcentagem da matéria seca (MS) da dieta, obtidos pela inclusão de farelo de algodão em substituição ao milho e a

cevada, sendo o volumoso constituído de 60% de uma mistura de silagem de milho e feno de alfafa na base da MS, para vacas com uma produção média de 38 kg de leite por dia, observaram aumento linear significativo no consumo de MS (kg / dia), concluindo que o nível de PB de 17,5 % foi o que permitiu um melhor desempenho dos animais.

Pereira (2003) em experimento com vacas no terço inicial da lactação (até 100 dias) produzindo em média de 28 kg de leite dia, sendo a dieta constituída de farelo de soja, fubá de milho e silagem de milho na proporção concentrado / volumoso de 40/60, com níveis crescentes de PB na MS da dieta (12,7; 14,1; 15,5 e 16,9), observou aumento linear nos consumos de MS, matéria orgânica (MO), nutrientes digestíveis totais (NDT), PB e fibra em detergente neutro (FDN) e digestibilidades da MS e FDN em relação ao teor protéico da dieta. Broderick (2003), utilizando para vacas com uma produção média de 33 kg de leite dia, três diferentes níveis de PB (15,1 ; 16,7 e 18,4%) na MS da dieta total, obtidos por substituição do milho com alta umidade por farelo de soja, também observou aumento na IMS em função do teor de PB da dieta.

O suprimento de proteína em quantidade e qualidade, observando suas relações com os demais ingredientes dietéticos é muito importante, pois a proteína é o segundo nutriente limitante em dietas para animais ruminantes, sendo as fontes protéicas os ingredientes mais onerosos na formulação de dietas para vacas lactantes, devido ao seu auto requerimento e elevado custo de fontes tradicionais como o farelo de soja. Segundo Valadares Filho & Valadares (2001), o requerimento protéico de vacas lactantes é atendido mediante a absorção de aminoácidos pelo intestino delgado, provenientes de duas principais fontes que são a proteína microbiana verdadeira digestível (PMVd) e a proteína não degradada no rúmen digestível (PNDRd), denominando de proteína metabolizável (Pmet) a soma dessas duas fontes, inicialmente citado pelo ARC (1965).

Na nutrição protéica de ruminantes é de fundamental importância uma estimativa acurada da síntese de proteína microbiana ruminal e a sua contribuição em termos de aminoácidos digestíveis para o animal. Diversos métodos empregados na estimativa da quantidade de compostos nitrogenados microbianos, baseiam-se em indicadores microbianos (Silva et al., 2001). Entre eles citam-se a utilização de dietas purificadas, e os indicadores ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA), ácidos ribonucléicos (RNA) e os isótopos N^{15} , S^{35} e P^{32} (Broderick & Merchen, 1992).

Entretanto, esses métodos são trabalhosos e requerem a utilização de animais fistulados no abomaso ou intestino delgado, tornando a estimação do fluxo de digesta um processo laborioso e impreciso (Vagnoni et al., 1997). Segundo Timmermans Jr. et al. (2000), devido a estas limitações tem havido interesse crescente no desenvolvimento de técnicas não invasivas para estimar a produção de compostos nitrogenados (N) microbianos.

Estudos realizados há mais de trinta anos, demonstraram que a quantidade de compostos nitrogenados excretados na urina por ovinos, como alantoína e ácido úrico, foi correlacionada com a concentração de ácidos nucléicos no rúmen (Topps & Elliott, 1965, citados por Stangassinger et al., 1995; e Johnson et al., 1998). Segundo Fujihara et al. (1987), o uso da excreção urinária de derivados de purinas (DP) para estimar a síntese microbiana foi proposta inicialmente por Blaxter & Martin, em 1962 e por Topps & Elliot, em 1965. Entretanto, maiores progressos no estabelecimento de um método relacionando a excreção de DP e a produção microbiana só mais recentemente foram obtidos (Mayes et al., 1995). A técnica de determinação da excreção urinária de DP admite que os ácidos nucléicos no duodeno são de origem predominantemente microbiana, e que, após a digestão intestinal e absorção, tais derivados são proporcionalmente recuperados na urina, principalmente na forma de alantoína, mas também como hipoxantina, xantina e ácido úrico (Perez et al., 1996).

A enzima chave na degradação de purinas é a xantina oxidase, que converte hipoxantina e xantina em ácido úrico. Este, então, consiste no produto final do catabolismo das purinas, porém, na maioria dos mamíferos, o ácido úrico é degradado ao produto de excreção alantoína pela ação da uricase (Leningher et al., 1995). Segundo Chen & Gomes (1992), na urina de bovinos apenas alantoína e ácido úrico estão presentes, devido à grande atividade de xantina oxidase no sangue e tecidos, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico antes da excreção.

Funaba et al. (1997) e Moscardini et al. (1998) utilizaram as excreções de alantoína e ácido úrico para representar o total de excreção urinária de DP. Vagnoni et al. (1997) e Johnson et al. (1998) concluíram que a excreção urinária de DP apresentou correlação positiva com a estimativa do fluxo de N microbiano no duodeno. O método para estimar a produção microbiana baseado na excreção de DP requer coleta total de urina. Entretanto, tal procedimento supera as

desvantagens dos métodos citados anteriormente, uma vez que não requer qualquer procedimento cirúrgico e pode ser simplificado para ser usado em condições de campo (Chen & Gomes, 1992).

Porém tem havido vários registros na literatura, demonstrando ser a excreção de creatinina uma função constante do peso vivo (Topps & Elliott, 1967; Susmel et al., 1994; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997), e parece possível a utilização da creatinina para estimativa do volume urinário. Isto poderia permitir a estimativa da excreção de DP e de outros compostos nitrogenados, sem a coleta total de urina (Chen et al., 1995). Rennó et al. (2000) observaram que a excreção de creatinina não foi afetada pela porcentagem de proteína bruta da dieta e foi proporcional ao peso vivo, apresentando valor médio diário de 27,36 mg/kg PV e, que a excreção de creatinina na urina pode ser usada para estimar as perdas urinárias endógenas de compostos nitrogenados.

Valadares et al. (1999) estimaram as excreções diárias de DP a partir de amostras *spot* de urina e diferenças entre o volume observado e o estimado só foram significativas para 35% de concentrado na dieta, não havendo diferenças para 20, 50 e 65% de concentrados. Oliveira et al. (2001b) concluíram que a excreção urinária de DP pode constituir um método não-invasivo para estimar a produção microbiana ruminal em vacas de leite e que o volume urinário pode ser estimado a partir de amostras *spot* de urina.

Os ruminantes possuem a capacidade única de subsistir e produzir sem o fornecimento de uma fonte de proteína verdadeira na dieta, devido a capacidade dos microrganismos ruminais em converter compostos nitrogenados não protéicos (NNP) em proteína microbiana de alto valor biológico. Vacas podem crescer, reproduzir e produzir leite, quando a dieta contém somente NNP como fonte de nitrogênio (Church, 1993). Quanto mais as fontes de proteína de alta qualidade forem utilizadas diretamente na alimentação humana, estudos para encontrar fontes alternativas de proteína e a utilização eficiente do nitrogênio não protéico em dietas para ruminantes, tornar-se-ão mais importantes, (Casper & Schingoethe, 1986).

Devido ao baixo custo e boa disponibilidade no mercado, a uréia tem-se tornado uma boa opção para suprir o requerimento de proteína degradada no rúmen (PDR) de vacas em lactação. Virtanen et al. (1966) afirmaram que o "rúmen" é capaz de suprir todo o requerimento de proteína de vacas com produções de até 4500 Kg de leite por lactação.

Revisando trabalhos onde a uréia foi utilizada como suplemento em proporções que variaram de 0,4 a 1,8 % na matéria seca total, substituindo total ou parcialmente o farelo de soja (FS), o FS tratado para elevar teor de PNDR, a farinha de peixe mais FS ou fontes de proteína de origem animal em dietas, Santos et al. (1998) observaram que a porcentagem de proteína no leite não foi afetada pela uréia em 17 comparações, diminuiu em uma e aumentou em cinco, a produção de leite não foi afetada em 20 comparações e diminuiu em três, sendo que em uma delas a silagem de alfafa com alta umidade e a suplementação de uréia na base de 1,8 % da matéria seca pode ter sido a causa. Os valores médios de produção foram de 32,7 e 33,3 kg / dia para as dietas suplementadas com uréia e controle, respectivamente. A uréia não afetou a IMS em 17 comparações, aumentou em duas e diminuiu em cinco.

Colovos et al. (1967), utilizando diferentes níveis de uréia no concentrado (0,0; 1,2; 2,0 e 2,5%) para vacas em lactação com uma produção média diária de 27 kg de leite, não observaram diferença quanto ao consumo de MS e produção de leite com e sem correção para 4% de gordura, em dietas que a uréia representava 0,0; 17,86; 30,87 e 37,93% da PB da dieta. Resultado semelhante também foi encontrado por Holter et al. (1968).

Quando o nitrogênio proveniente da uréia forneceu até 35 % de todo o nitrogênio dietético em dietas à base de silagem de milho, como volumoso exclusivo fornecido *ad libitum*, para vacas com produções em torno de 23 kg de leite dia e consumindo 1 Kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite com 4 % de gordura, nenhuma diferença significativa foi observada no consumo de matéria seca e na produção e composição do leite (Plummer et al., 1971).

Oliveira et al. (2001a), utilizando quatro rações experimentais formuladas para conter, na base da matéria seca, 60% de silagem de milho e 40% de concentrado e níveis crescentes de uréia (0; 0,7; 1,4; e 2,1%), sendo que todas as dietas continham aproximadamente 14% PB na MS total, observaram que os níveis crescentes de uréia na dieta resultaram em consumo reduzido de MS, MO, PB, carboidratos totais (CHOT) e NDT, e que a produção de leite corrigida ou não para 3,5% de gordura, as quantidades de gordura e proteína e os teores de proteína do leite diminuíram linearmente, enquanto os teores gordura e a eficiência alimentar, expressa em kg de leite/ kg MS ingerida, não foram influenciadas pelos níveis de uréia na dieta. Resultado semelhante foi também observado por Silva et al. (2001).

Trabalhando com substituição parcial do farelo de soja por uréia e palma forrageira, para avaliar o desempenho de vacas holandesas em lactação, variando os níveis de uréia de 0,0; 0,8; 1,54; e 2,40% MS da dieta, Melo et al.(2003) observaram que os consumos de MS, MO, EE, CHT; CNF e NDT, e que as produções de leite sem e com correção para 3,5% de gordura diminuíram linearmente com a inclusão de uréia e palma forrageira nas dietas. A produção de gordura, proteína, a composição do leite, e a eficiência alimentar (kg de leite/ kg de MS consumida) não foram afetadas pelos níveis de uréia.

Outra fonte protéica que também pode ser utilizada em dietas para vacas lactantes em substituição a fontes protéicas tradicionais é o farelo de algodão, o qual é o produto obtido após a moagem fina do resíduo produzido após a extração do óleo do caroço de algodão por um processo químico ou mecânico, sendo que, sua composição química pode variar segundo o processo de extração utilizado e da inclusão ou não da casca. O produto pode ser comercializado sob duas principais formas que são o farelo de algodão com 28 ou com 38 % de PB. Este é utilizado principalmente como fonte de proteína em dietas para animais ruminantes, tendo sua inclusão limitada em baixos níveis em dietas para animais não-ruminantes, devido aos elevados teores de fibra e de gossipol.

Segundo Santos et al. (1998), a proteína microbiana é a melhor fonte de aminoácidos disponíveis para a síntese e produção de leite e a segunda melhor fonte é o farelo de soja. O perfil de aminoácidos do farelo de algodão é inferior ao da proteína microbiana e do farelo de soja, mas superior ao do farelo de glúten de milho, possuindo uma quantidade de lisina e metionina em relação ao total de aminoácidos essenciais inferior ao recomendado por Schwab (1994), que seria de 15 e 5%, respectivamente, mas com uma boa relação entre esses aminoácidos (aproximadamente 3 :1).

Comparando o farelo de algodão com os farelos de amendoim e de soja, em dietas com 13,5 e 16,4% de PB na MS total, Van Horn et al. (1979) observaram reduções na produção de leite e no consumo de matéria seca para animais alimentados com farelo de algodão em relação às demais dietas, somente, na dieta com menor teor protéico. Barraza et al. (1991), substituindo totalmente o farelo de soja por farelo e caroço de algodão (15% MS da dieta total) na dieta de vacas com uma produção média diária de 20 kg de leite e alimentadas com volumoso à base de feno de alfafa (10 % MS da dieta total) e silagem de milho (35 % MS da dieta total),

não encontraram diferenças significativas na produção de leite e no consumo de matéria seca pelos animais.

Devido ao bom perfil de aminoácidos e ao elevado teor de proteína bruta, o farelo de algodão tornou-se um bom substituto para o farelo de soja, sendo capaz de manter a produção e composição do leite em dietas com uma concentração superior a 16% de PB na MS total (Bernard, 1997). Blackwelder et al. (1998) também observaram que o farelo de algodão foi capaz de manter produções de leite comparáveis ao farelo de soja, com a adição ou não de fontes de PNDR, em dietas com 17% PB na MS total, quando essas foram consumidas por vacas com uma média de produção de 42 kg de leite por dia. Trabalhando com diferentes fontes de PNDR, Mayer et al. (1997) não encontraram diferenças no consumo de matéria seca e na produção de leite, com a utilização de farelo de algodão em relação às demais fontes de proteína das dietas, para animais com uma produção média diária de 20 kg de leite.

Imaizumi et al. (2002), submeteu vacas com uma produção média de 35 kg de leite a três dietas, sendo uma controle à base de farelo de soja e as demais com 50 e 100% de substituição do farelo de soja por farelo de algodão, com uma relação concentrado volumoso de 55:45, utilizando como volumoso a silagem de milho, encontraram um decréscimo linear significativo para a produção de leite (kg/dia), mas não para a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, que tendeu a aumentar com a adição de farelo de algodão, concluindo que a utilização do farelo de algodão como alternativa para substituição ao farelo de soja mostrou-se inadequada, o que discorda dos experimentos anteriormente citados.

Como pode ser observado, ainda existe discordância entre os pesquisadores quanto à utilização de produtos como a uréia e o farelo de algodão em dietas para vacas em lactação, sendo que o potencial de incorporação de ingredientes oriundos de subprodutos em dietas para animais ruminantes requer cuidado, planejamento, avaliação e estudo. Rações formuladas usando ingredientes alternativos devem ser eficientes, seguras, econômicas e permitir igual performance produtiva em relação aos animais alimentados com ingredientes tradicionais. Para isso, há necessidade de pesquisas focando a utilização desses subprodutos na formulação de dietas, visando aumentar o conhecimento sobre seu valor nutricional e o seu impacto sobre a performance dos animais e o retorno econômico da sua utilização nos sistemas de produção.

Conduziu-se a presente pesquisa com os objetivos de avaliar o efeito de dois períodos de coletas de fezes (dois ou seis dias), de dois indicadores (FDNi e FDAi) para estimar a digestibilidade e de diferentes fontes de proteína dietéticas sobre a produção e composição do leite, o consumo e digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos e o consumo dos nutrientes digestíveis totais. Avaliaram-se também os níveis de N-uréia no plasma e leite, a excreção urinária de derivados de purinas, a secreção de alantoína no leite, e a produção de PB microbiana.

Referências Bibliográficas

- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p. 1598-1624, 2000.
- ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 3063-3075, 1996.
- ARC. **The nutrient requirements of ruminant livestock**. N. 2 Ruminants Agricultural Research Council, H. M. S. Office, England, 1965. 264p.
- BARRAZA, M. L., COPPOCK C. E.; BROOKS, K.N. Iron Sulfate and Feed Pelleting to Detoxify Free Gossypol in Cottonseed Diets for Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science** v.74, p. 3457-3467, 1991.
- BERNARD, J.K. Milk production and composition responses to source of protein supplement in diets containing wheat middlings. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.938-942. 1997.
- BLACKWELDER J. T., HOPKINS, B. A., DIAZ, D. E., WHITLOW, L. W., and BROWNIE, C. Milk production and plasma gossypol of cows fed cottonseed and oilseed meals with or without rumen-undegradable protein. **Journal of Dairy Science**. v. 81, n. 11, p. 2934-2941 1998.
- BRODERICK, G. A. Effects of varying dietary protein and energy levelson the production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.86, p.1370–1381, 2003.
- BRODERICK, G.A., MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**. v.75, p.2618-2632, 1992.
- CASPER, D.P.; SHINGOETHE, D.J., Evaluation of urea and dried whey in diets of cows during early lactation. **Journal Dairy Science**. v.69 p.1346-1354, 1986.
- CHEN, X.B., GOMES, M.J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p.
- CHEN, X. B., A. T. MEJIA, D. J. KYLE, and E. R. ØRSKOV. Evaluation of the use of 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.125, p.137–143, 1995.
- CHURCH,D.C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. : Waveland press, Inc. 1993, 564 p.

- CLARCK, J.H.; KLUSMEYER, T.H; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v 75, p 2304 – 2323, 1992.
- COLOVOS, N.F., HOLTER, J.B., DAVIS, H.A. et al. Urea for lactating dairy cattle. II Effect of various levels of concentrate urea on nutritive value of the ration. **Journal of Dairy Science**.v.50, n.4, p. 523-526, 1967.
- FORBES, J.M. Physiological and metabolic aspects of feed intake control. **FARM ANIMAL METABOLISM AND NUTRITION**, cap 17. CAB International. p. 319-333, 2000.
- FUJIHARA, T., ORSKOV, E.R., REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Jornal of Agricultural Science**. v.109, p. 7-12, 1987.
- FUNABA, M., KENSUKE, K., TSUNENORI, I. et al. Duodenal flow of microbial nitrogen estimated from urinary excretion of purine derivatives in calves after early weaning. **Journal of Animal Science**. v.75, n.7, p.1965-1973, 1997.
- GRINGS, E.E.; ROFFLER, R.E.; DEITELHOFF, D.P. Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfafa-based diets. **Journal of Dairy Science**. v.74, p.2580-2587. 1991.
- HOLTER, J.B., COLOVOS, N.F., DAWIS H.A. Urea for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v.51, p.1243-1248, 1968.
- IMAIZUMI, H.; SANTOS, F. A. P.; VOLTOLINI, T. V. et al., Utilização de farelo de algodão como substituto do farelo de soja em dietas para vacas holandesas em lactação. 39^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Recife 2002. **Anais...** Recife: SBZ, 2002.
- JOHNSON, L.M., HARRISON, J.H., RILEY, R.E. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. **Journal of Dairy Science** . v.81, n.9, p.2408-2420, 1998.
- LENINGHER, A.L., NELSON, D.L., COX, M.M. 1995. **Princípios de bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Savier. 839p.
- MAYER, L.R.R.; COELHO DA SILVA, J. F.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Rações com diferentes teores de proteína degradada no rúmen para vacas em lactação. 1. Consumo, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.26, n.4, p.813 – 823, 1997.
- MAYES, R.W., DOVE, H., CHEN, X.B. et al. Advances in the use of faecal and urinary markers for measuring diet composition, herbage intake and nutrient utilization in herbivores. In: JOURNET, M., GRENET, E., FARCE, MH. (Eds.). **RECENT DEVELOPMENTS IN THE NUTRITION OF HERBIVORES** . Paris, 1995. p.381-406, 1995.
- MELO, A.A.S.; FERREIRA, M. A.; VERÁS, A. S. C. et al. Substituição Parcial do Farelo de Soja por Uréia e Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em Dietas Para Vacas em Lactação. I. Desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, n.3, p.727-736, 2003.
- MOSCARDINI, S., WRIGHT, T.C., LUIMES, P.H. et al. Effects of rumen undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Dairy Science**. v. 81, n.9, p.2421-2429, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, D.C. National Academic Press, 2001. 381 p.

- OLIVEIRA, A.S., VALADARES, R.F.D., VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite em vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30, n.4, p. 1358-1366, 2001 a.
- OLIVEIRA, A.S., VALADARES, R.F.D., VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas da excreção 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, n.5, p. 1621-1629, 2001 b.
- PEREIRA, M. L. A. **Proteína nas dietas de vacas nos terços inicial e médio da lactação**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- PEREZ, J.F., BALCELLS, J., GUADA, J.A. et al. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ¹⁵N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. **British Journal of Nutrition**. V.75, p.699-709, 1996.
- PLUMMER, J.R., MILES, J.T., MONTGOMERY, M.J. Effect of urea in the concentrate mixture on intake and production of cows fed corn silage as the only forage. **Journal of Dairy Science** . v.54, n.12, p.1861-1865, 1971.
- RENNÓ, L.N., VALADARES, R.F.D. et al. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.29, n.4, p. 1235-1243, 2000.
- SANTOS, F. A. P.; SANTOS, J. E. P.; THEURER, C.B. et al. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12 year literature review. . **Journal of Dairy Science** . v. 81, p. 3182-3213, 1998.
- SCHWAB, C. G.. Optimizing amino acid nutrition for optimum yields of milk and milk protein. Pages 114–129 *in* Proc. Southwest Nutr. Manage. Conf., Phoenix, AZ. Dep. Anim. Sci., Univ. Arizona, Tucson, 1994.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 1 consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30, n.5, p. 1639-1649, 2001.
- STANGASSINGER, M., CHEN, X.B., LINDBERG, J.E. et al. Metabolism of purines in relation to microbial production. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY, 8, Stuttgart, 1995. *Proceedings...* Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 1995. p.387-406, 1995.
- SUSMEL, P., STEFANON, B., PLAZZOTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**. v.123, n. 257-266, 1994.
- TIMMERMANS JR., S.J., JOHNSON, L.M., HARRISON, J.H. et al. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using milk uric acid or allantoin. **Journal of Dairy Science** . v. 83, n.6, p.1286-1299, 2000.
- TOPPS, J.H., ELLIOT, R.C. Partition of nitrogen in the urine of African sheep given a variety of low-protein diets. **Animal Production**. v. 9, n.1, p. 219-227, 1967.
- VAN HORN, H.H., ZOMETA, C.A., WILCOX, C.J., MARSHALL, S.P. and HARRIS, B., Jr. Complete rations for dairy cattle. VIII. Effect of percent and source of protein on milk yield and ration digestibility. **Journal of Dairy Science** . v. 62, p. 1086-1093, 1979.
- 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., GONÇALVES, L.C., RODRIGUEZ, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VALADARES, R.F.D., BRODERICK, G.A., VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**. v. 82, p. 2686-2696, 1999.
- VALADARES FILHO, S.C., BRODERICK, G.A., VALADARES, R.F.D. et al. 2000. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on nutrient utilization and milk production. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p.106-114, 2000.
- VALADARES FILHO, S. de C.; VALADARES, R. F. D. Recentes Avanços em Proteína na Nutrição de Vacas Leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNAIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE – SINLEITE, 2, 2001, Lavras: UFLA,. p. 228 – 243, 2001.
- VIRTANEN, A. I. Milk production of cows on protein-free feeds. **Science** v.153, p.1603–1608, 1966.

Consumo e Digestibilidade Aparente Total dos Nutrientes, Produção e Composição do Leite de Vacas Alimentadas com Dietas Contendo Diferentes Fontes de Proteína

Resumo: Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa entre puras e mestiças, distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4, organizados de acordo com os dias em lactação, com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes fontes protéicas sobre os consumos e as digestibilidades dos nutrientes, a produção e composição do leite, utilizando-se 60% de silagem de milho na base da MS total das dietas. Os concentrados foram constituídos de diferentes fontes protéicas (FS - farelo de soja; FA38 – farelo de algodão 38%PB; FA28 - farelo de algodão 28%PB e FSU – farelo de soja mais 5% de uréia/sulfato de amônio na MS do concentrado). Os quatro períodos experimentais tiveram duração de 18 dias cada, sendo os últimos sete dias destinados às coletas de amostras. No 15^o dia do período experimental, foi coletada uma amostra de leite por animal em cada uma das ordenhas, para posteriormente originar uma amostra composta. No 12^o e 17^o dias às, 8:00 e 16:00 horas, respectivamente, foram coletadas amostras de fezes, sendo utilizada a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno para as estimativas da excreção de matéria seca fecal. As comparações foram sempre feitas em relação à dieta controle, (FS). Os consumos de matéria seca (MS) e de matéria orgânica (MO) não diferiram entre as dietas ($P>0,05$), mas o de proteína bruta (PB) foi maior com a dieta FA38, os de proteína degradada no rúmen (PDR) e de proteína não degradada no rúmen (PNDR) foram maiores e menores, respectivamente, com as dietas FA28 e FSU, enquanto os de carboidratos não fibrosos (CNF) e de fibra em detergente neutro (FDN) foram menores e maiores, respectivamente, com as dietas FA38 e FA28. Os consumos de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram menores ($P<0,05$) com ambas as dietas em relação à dieta controle (FS). Os coeficientes de digestibilidade (CD) da MS, MO, e FDN foram menores ($P<0,05$) com as dietas FA38, FA28 e FSU. Os CD da PB e do EE foram menores e maiores ($P<0,05$), respectivamente, com as dietas FA38, FA28 e o CD dos CNF foi menor ($P<0,05$) com a dieta FSU. A produção de leite (PL) corrigida (PLG) ou não para 3,5% de gordura, o teor e a produção de gordura do leite não foram influenciados ($P>0,05$) pelas diferentes fontes protéicas, mas a eficiência de utilização da MS e do nitrogênio dietético para a produção de leite, o teor e a produção de proteína do leite foram inferiores ($P<0,05$), com as dietas que continham farelo de algodão em relação à dieta com FS. Conclui-se que vacas com uma produção média de 25 kg de leite/dia podem ser alimentadas com dietas contendo 5% de uréia/sulfato de amônio na MS do concentrado ou farelo de algodão 38% PB, quando o volumoso for silagem de milho fornecido na base de 60% da MS total das dietas.

Palavras-chave: consumo, digestibilidade, farelo de algodão, farelo de soja, produção de leite, uréia.

Intake and Total Apparent Digestibility of the Nutrients, Milk Yield and Composition of Dairy Cows Fed with Diets Containing Different Protein Sources

Abstract: Twelve Holstein and cross-bred dairy cows were used in this trial and were distributed in a three latin square design (4x4), according to days in milk, aiming at evaluate the effect of different protein sources on intake, nutrients digestibility, milk production and composition. A corn silage based diet (60% of the total dry matter) was used and the concentrate was formulated with different proteins sources (SM – soybean meal, CM38 – cottonseed meal with 38% of crude protein, CM28 - cottonseed meal with 28% of crude protein and SMU – soybean meal plus 5% of urea/ammonium sulfate in the concentrate dry matter). The four experimental periods lasted 18 days each, being the last seven days used to sample collections. Milk samples from each animal were collected twice (morning and afternoon) at the 15th day of each experimental period, and later were combined in order to obtain a composed sample. Fecal samples were collected at the 12th and 17th days of each period, at 8:00 and 16:00 hours, respectively, and were used to estimate the nutrients digestibility. Indigestible neutral detergent fiber (NDFi) was used as internal marker for the estimation of fecal dry matter excretion. The means comparisons were always made in relation to the control diet (SM). Dry matter (DMI) and organic matter intakes (OMI) didn't differ among diets ($P > 0,05$), whereas crude protein (CP) intake was larger to the CM38 diet. Rumen degradable (RDP) and undegradable protein intakes (RUP) were larger and smaller, respectively, to the CM28 and SMU diets. Non-fiber carbohydrates (NFC) and neutral detergent fiber (NDF) intakes were smaller and larger, respectively, to the CM38 and CM28 diets. Total digestible nutrients (TDN) intake was smaller ($P < 0,05$) in both diets, when compared to the control diet (SM). The DM, OM and NDF digestibility coefficients (DC) were smaller ($P < 0,05$) in the CM38, CM28 and SMU diets compared to the control diet. CP and EE digestibility were smaller and larger ($P < 0,05$), respectively, in the CM38, CM28 diets, while NFC digestibility was smaller ($P < 0,05$) in the SMU diet. Milk yield (MY), corrected or not for 3,5% of fat, milk fat concentration and production were not influenced ($P < 0,05$) by the different protein sources, albeit DM and nitrogen efficiency of use for milk production, milk protein concentration and production were lower ($P < 0,05$) in the diets formulated with cottonseed meal to the diet formulated with SM. It was concluded that dairy cows producing, on average, 25 kg/day, can be fed with diets containing 5% of urea in the dry matter of the concentrate or cottonseed meal with 38% CP, in situations where the roughage is composed by 60% (total dry matter basis) of corn silage.

Key words: cottonseed meal, digestibility, intake, milk yield, soybean meal, urea.

Introdução

A produtividade de ruminantes depende da sua habilidade para consumir e obter energia dos alimentos disponíveis (Allen, 1996). A ingestão de alimentos é o principal fator afetando a performance animal e a eficiência produtiva. Seu conhecimento é necessário para a formulação de dietas, para predição da performance animal, para planejar e controlar o sistema de produção. Segundo o NRC (2001), estimativas precisas da ingestão de matéria seca são necessárias para evitar sub ou superalimentação e aumentar a eficiência alimentar, promovendo o uso eficiente de nutrientes.

Características físicas e químicas dos ingredientes dietéticos e suas interações, podem ter um grande efeito na IMS de vacas lactantes, dentre elas: conteúdo de fibra, facilidade de hidrólise do amido e da fibra, fragilidade e tamanho de partículas, produtos de fermentação das silagens e quantidade e degradação ruminal da proteína dietética (Allen, 2000).

Após o conhecimento da composição química, a estimativa dos valores de digestibilidade é reconhecidamente essencial para determinar o valor nutritivo dos alimentos (Valadares Filho et al., 2000). Segundo Pereira (2003), a digestibilidade dos nutrientes é um dos componentes básicos na determinação da energia dos alimentos para a produção de leite, ou seja, energia líquida de lactação (EL_L), energia metabolizável (EM), energia digestível (ED) ou nutrientes digestíveis totais (NDT). Entretanto, existe uma complexa relação entre proteína dietética e energia e a quantidade de proteína que será utilizada pelo animal (Broderick, 2003).

O suprimento de proteína em quantidade e qualidade, observando suas relações com os demais ingredientes dietéticos é muito importante, pois a proteína é o segundo nutriente limitante em dietas para animais ruminantes, sendo que as fontes protéicas podem ser consideradas o ingrediente mais oneroso na formulação de dietas para vacas lactantes, devido ao seu grande requerimento e elevado custo de fontes tradicionais como o farelo de soja.

Em sistemas intensivos de produção de leite, os quais exploram animais de elevado potencial produtivo, conseqüentemente, com elevados níveis de requerimento de nutrientes a serem atendidos, o concentrado tem uma maior participação no custo de produção de leite (Ferreira, 2002).

A substituição do farelo soja por fontes protéicas alternativas sem o comprometimento da performance dos animais pode ser uma alternativa viável para reduzir os custos com a alimentação do rebanho leiteiro. Por isso, cresce o interesse por parte dos pesquisadores quanto a utilização de uréia e farelo de algodão em dietas para vacas em lactação, sendo que o potencial de incorporação desses ingredientes em dietas para animais ruminantes requer cuidado, planejamento, avaliação e estudo. Rações formuladas usando ingredientes alternativos devem ser eficientes, seguras, econômicas e permitir igual performance produtiva em relação aos animais alimentados com ingredientes tradicionais.

Conduziu-se esse trabalho com o objetivo de avaliar o efeito das diferentes fontes de proteína dietéticas sobre a produção e composição do leite, o consumo e digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos e o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT) predito e observado. Avaliaram-se também a viabilidade da utilização do sistema de equações proposto pelo NRC (2001) para estimar o consumo de nutrientes digestíveis (PBd, EEd, FDNd, CNFd e NDT).

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG. Foram utilizados 12 animais da raça Holandesa, entre puros e mestiços, com um peso médio de 550 kg e produção de leite de aproximadamente 25 kg por dia, distribuídos em três quadrados latinos (QL) 4 X 4, organizados de acordo com os dias em lactação. A proporção dos ingredientes na mistura de concentrados, a composição dos concentrados e da silagem de milho e a composição das dietas experimentais podem ser observadas nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente.

Foram avaliadas quatro dietas constituídas de diferentes fontes protéicas: FS (farelo de soja); FA38 (farelo de algodão com 38% de PB); FA28 (farelo de algodão com 28% de PB) e FSU (farelo de soja com 5% de uréia/sulfato de amônio). Utilizou-se 60% de silagem de milho na base da MS total para todas as dietas.

Tabela 1- Proporção dos ingredientes constituintes na mistura de concentrados, expressa na base da matéria seca

Ingredientes	Concentrados			
	FS	FA 38	FA 28	FSU
Fubá de milho	43,67	29,81	15,42	62,01
Farelo de Soja	41,61	-	14,39	19,77
Farelo de Trigo	10,00	10,00	10,00	10,00
F. Algodão 38	-	55,47	-	-
F. Algodão 28	-	-	55,47	-
Uréia /SA	1,50	1,50	1,50	5,00
Mist. Mineral	3,22	3,22	3,22	3,22

Uréia / SA = 10% de sulfato de amônio, Mistura mineral = Fosfato Bicálcico (20%), Calcário (40,84%), Cloreto de Sódio (32,44%), Flor de Enxofre (5,84%), Sulfatos de Cobalto (0,003%), Cobre (0,083%) e Zinco (0,775%), Iodato de Potássio (0,006%) e Selenito de Sódio (0,005%). FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

Tabela 2 - Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradada no rúmen (PDR), proteína não degradada no rúmen (PNDR), compostos nitrogenados não protéicos (NNP) e insolúveis em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para proteína e cinzas (FDNcp), carboidratos não fibrosos (CNF), lignina e NDT estimado, obtidos nos concentrados e na silagem de milho

Item	Concentrados				Silagem
	FS	FA 38	FA 28	FSU	
MS (%)	87,94	88,66	89,02	88,29	29,76
MO ¹	92,79	92,00	92,15	93,94	95,19
PB ¹	28,89	30,53	28,73	28,67	5,26
PDR ¹	18,34	19,55	20,32	21,95	4,45
PNDR ¹	10,55	10,99	8,41	6,71	0,81
NNP ²	21,53	22,60	24,10	48,85	44,51
NIDA ²	0,74	0,44	0,83	0,69	2,28
EE ¹	2,42	2,91	1,54	2,89	2,15
FDN ¹	16,54	29,97	38,74	16,16	62,34
FDNcp ¹	10,89	27,68	33,31	11,60	58,54
CNF ¹	47,19	30,84	25,40	53,72	25,43
LIGNINA ¹	1,30	6,11	7,82	1,22	3,2
NDT _{est} ^{1,3}	70,26	65,78	60,19	75,43	62,88

1- %MS; 2- % do N total; 3- estimado pelas equações do NRC (2001), para um consumo de três vezes a mantença FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

Tabela 3 - Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradada no rúmen (PDR), proteína não degradada no rúmen (PNDR), compostos nitrogenados não protéicos (NNP) e insolúveis em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigida para proteína e cinzas (FDNcp), carboidratos não fibrosos (CNF), lignina e NDT estimado, obtidos para as quatro dietas

Item	Dietas			
	FS	FA 38	FA 28	FSU
MS (%)	53,03	53,32	53,46	53,17
MO ¹	94,23	93,91	93,98	94,69
PB ¹	14,71	15,37	14,65	14,62
PDR ¹	10,01	10,49	10,80	11,45
PNDR ¹	4,71	4,88	3,85	3,17
NNP ²	35,32	35,75	36,35	46,25
NIDA ²	1,66	1,54	1,70	1,64
EE ¹	2,26	2,45	1,91	2,45
FDN ¹	44,02	49,39	52,90	43,87
FDNcp ¹	39,48	46,20	48,45	39,76
CNF ¹	34,13	27,59	25,42	36,75
LIGNINA ¹	2,44	4,36	5,05	2,41
NDT _{est} ^{1,3}	65,83	64,04	61,80	67,90

1- %MS; 2- % do N total; 3- estimado pelas equações do NRC (2001), para um consumo de três vezes a mantença. FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

Os concentrados foram formulados de forma isoprotéica (aproximadamente 26% de PB na base da matéria natural) e as dietas continham aproximadamente 15,5% de PB na MS, conforme proposto por Pereira (2003). Com exceção da dieta FSU, em todas as demais foram adicionados 1,5% de uréia/sulfato de amônio na base da MS total dos concentrados. A dieta FA28 foi constituída da mesma proporção de farelo de algodão da dieta FA38, havendo conseqüentemente a necessidade de se adicionar farelo de soja à mesma.

O experimento foi constituído de quatro períodos experimentais com duração de 18 dias cada, sendo os 11 primeiros destinados a adaptação dos animais às dietas e o restante para a coleta de dados.

Os animais foram alojados em baias individuais providas de cocho e bebedouro automático, e a alimentação foi oferecida na forma de mistura completa *ad libitum*, duas vezes ao dia, após as ordenhas da manhã e da tarde, de modo a permitir 5 a 10% de sobras em relação a matéria natural do alimento oferecido. O consumo diário foi medido pela diferença entre o fornecido e as sobras, sendo que, no período de coleta, amostras do alimento fornecido e das sobras foram obtidas durante todos os sete dias e ao final, foi elaborada uma amostra composta representativa por animal em cada período, sendo estas, armazenadas em sacos plásticos e congeladas a -20°C , para posteriormente serem analisadas.

O peso dos animais foi mensurado ao início e ao final de cada período experimental. As ordenhas foram realizadas duas vezes ao dia, às 6:00 e 16:00 horas, sendo as produções de leite medidas diariamente para acompanhamento do desempenho dos animais. No 15^o dia do período de coleta, foi coletada uma amostra por animal em cada uma das ordenhas, sendo posteriormente feita uma amostra composta, proporcional às produções da manhã e da tarde, segundo recomendado por Broderick & Clayton (1997). As amostras de leite foram posteriormente analisadas para gordura de acordo com Pregolato & Pregolato (1985) e para nitrogênio total conforme descrito por Silva & Queiroz (2002). A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLG) pela equação citada por Sklan et al. (1992); onde $PLG = (0,432 + 0,1625 \times G) \times \text{kg de leite}$, em que $G = \%$ de gordura no leite.

Para a determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes, foram utilizadas a fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno, obtida após 144 horas de incubação *in situ* dos alimentos fornecidos, sobras e fezes, utilizando sacos Ankon® (filter bag F57), segundo Cochran et al. (1986). Foram coletadas duas amostras de fezes, sendo uma a partir das 8:00 no décimo segundo dia e a outra às 16:00 horas no décimo sexto dia do período de coletas, conforme descrito por Ítavo et al. (2002).

Após o término do experimento, as amostras de alimentos, fezes e sobras foram descongeladas, pré-secas em estufa de ventilação forçada a $60 \pm 5^{\circ}\text{C}$, durante 72 a 96 horas e posteriormente moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm. As análises de matéria seca, cinzas, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e ácido e compostos nitrogenados totais foram feitas segundo método descrito por Silva & Queiroz (2002). A porcentagem de carboidratos não fibrosos nos concentrados foi obtida segundo Hall & Akinyode (2000) como $CNF = 100 - ((\% \text{PB} -$

% PBU + % U) +%FDN + % EE + % Cinzas) e os nutrientes digestíveis totais, $NDT = PBd + FDNd + CNFd + 2,25 \times EEd$, onde PBd, FDNd, CNFd e EEd representam o total de nutrientes digestíveis, conforme método descrito por Weiss et al. (1992).

Foram comparados os consumos de PBd, EEd, FDNd, CNFd e de NDT observados e estimados pelas equações propostas pelo NRC (2001), sendo utilizada a fração metabólica fecal ajustada de 2,625; 1,361 e 3,014 para PB, EE e CNF, respectivamente, para transformar a digestibilidade verdadeira em aparente, segundo Weiss et al (1992).

O procedimento de validação foi feito por intermédio do ajuste de modelo de regressão linear simples (Regressão1.: $Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + e_i$) dos valores observados sobre os valores preditos, conforme descritos por Rocha Júnior et al. (2003). As estimativas dos parâmetros de Regressão 1 foram testadas sobre as seguintes hipóteses (1 e 2):

$$(1) H_0 : \beta_0 = 0$$

$$H_a : \beta_0 \neq 0$$

$$(2) H_0 : \beta_1 = 1$$

$$H_a : \beta_1 \neq 1$$

No caso de aceitação de ambas as hipóteses de nulidade, conclui-se que o valores preditos e observados são similares. Em situação contrária, nova equação de regressão foi traçada, suprimindo-se o parâmetro relativo ao intercepto (Regressão 2), de acordo com o seguinte modelo: $Y_i = \beta_1 X_i + e_i$. No caso da rejeição da hipótese de nulidade 1 e aceitação da hipótese de nulidade 2, conclui-se que há uma correspondência, com presença de vício constante, que corresponde a estimativa do intercepto. Já no caso de aceitação da primeira e rejeição da segunda hipótese de nulidade, é verificada a presença de vício global de estimação (BGE). Sob rejeição das duas hipóteses, certifica-se da presença de dois vícios, sendo considerado apenas o BGE.

Os teores de PDR e PNDR das dietas, foram calculados utilizando-se a degradabilidade efetiva determinada para cada um dos ingredientes dietéticos (farelos de soja, de trigo, de algodão 38 e 28, fubá de milho e silagem de milho), conforme método descrito à seguir.

Amostras pré-secas em estufa de 65^o C de 5 gramas de silagem, fubá de milho, farelo de soja, farelos de algodão e farelo de trigo foram moídas em moinho

tipo *Willey* com peneiras de 2mm e colocadas em sacos de náilon de 10 x 20 cm com porosidade de 56 μ m para a determinação das degradabilidades ruminais da PB e da MS.

Foram utilizados dois animais fistulados alimentados com a mesma dieta fornecida durante o último período experimental. Utilizaram-se dois sacos para cada alimento, tempo de incubação e animal, sendo que a silagem de milho foi incubada nos tempos de 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 144 h e os alimentos concentrados nos tempos de 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72 e 96 h. No tempo zero todos os alimentos foram somente lavados com água. Antes e após a incubação os sacos foram pesados para a determinação da matéria seca e do nitrogênio total.

Os coeficientes a, b e Kd para a determinação da degradabilidade da MS e PB foram obtidos da seguinte equação: degradação da MS ou PB = $a + b (1 - e^{-K_d t})$, onde a = fração solúvel, b = fração insolúvel potencialmente degradável, Kd = taxa de degradação da fração b no tempo t. A degradabilidade efetiva da PB foi calculada usando a equação $PDR = a + (b \times K_d) / (K_d + K_p)$, onde Kp = a taxa de passagem (Orskov & McDonald, 1979). O conteúdo de PNDR foi calculado como $100 - PDR$. A taxa de passagem foi calculada de acordo com o NRC (2001), usando as seguintes equações: Kp para silagem = $3,054 + 0,614 \times CMS$ e Kp para concentrado = $2,904 + 1,375 \times CMS - 0,020 \times \% \text{ do concentrado na dieta}$, onde CMS é o consumo de matéria seca expresso em %PV.

A eficiência alimentar foi computada para cada vaca, dividindo-se a produção média de leite pela ingestão média de matéria seca de cada período experimental (Valadares Filho et al., 2000). Da mesma forma procedeu-se o cálculo para a eficiência de utilização de nitrogênio, dividindo-se o N-total médio do leite pela ingestão média de N-total da dieta (Broderick, 2003).

As análises estatísticas foram feitas segundo o delineamento em quadrado latino, sendo aplicado o teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade, no qual as dietas FA38, FA28 e FSU foram comparadas com a dieta controle (FS) para todas as variáveis analisadas.

Resultados e Discussão

Na Tabela 4 são mostradas as estimativas dos parâmetros de degradabilidade *in situ* da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) dos alimentos

usados nas dietas experimentais. As degradabilidades efetivas médias calculadas para a MS dos alimentos foram, respectivamente, 50,77; 53,75; 63,93; 65,28; 41,03 e 46,85 para a silagem de milho, fubá de milho, farelos de soja, de trigo, de algodão 28 e 38, respectivamente, utilizando as taxas de passagem médias calculadas de $0,051.h^{-1}$ e $0,070.h^{-1}$ para a silagem de milho e os alimentos concentrados, respectivamente. As degradabilidades efetivas médias calculadas para a PB dos alimentos foram, respectivamente, 84,66; 54,34; 56,81; 81,02; 70,09 e 57,89% para a silagem de milho, fubá de milho, farelos de soja, de trigo, de algodão 28 e 38, utilizando as mesmas taxas de passagem médias calculadas para a degradabilidade efetiva da MS dos alimentos. Valores próximos foram relatados por Pereira (2003) para a silagem de milho (44,07 e 78,59%), fubá de milho (53,33 e 45,07%) e farelo de soja (72,80 e 63,70%) com taxas de passagem médias de $0,051.h^{-1}$ e $0,068.h^{-1}$ para a silagem de milho e o concentrado, respectivamente, e também por Valadares Filho (1994) e Valadares Filho et al. (2002) para todos os ingredientes.

Tabela 4- Frações solúvel (a) e insolúvel mas potencialmente degradáveis (b), taxa de degradação da fração b (Kd), degradabilidade efetiva (DE) e desvio padrão assintótico (DPA) estimados para a matéria seca e proteína bruta dos alimentos utilizados na confecção das dietas experimentais

Alimentos	Parâmetros			DE	DPA
	a	b	Kd		
Matéria Seca					
Silagem de milho	31,65	50,65	0,0308	50,77	3,04
Fubá de milho	23,87	76,13	0,0451	53,75	2,92
Farelo de soja	28,69	71,31	0,0680	63,93	5,07
Farelo de Trigo	47,38	33,60	0,0804	65,28	3,62
Farelo de algodão 28% PB	24,10	55,95	0,0309	41,03	3,46
Farelo de algodão 38% PB	26,58	60,15	0,0362	46,85	3,79
Proteína Bruta					
Silagem de milho	82,49	13,55	0,0097	84,66	0,67
Fubá de milho	18,61	73,49	0,0661	54,34	6,06
Farelo de soja	17,53	82,47	0,0633	56,81	7,32
Farelo de Trigo	55,24	41,12	0,1185	81,02	2,78
Farelo de algodão 28% PB	48,73	47,71	0,0577	70,09	4,82
Farelo de algodão 38% PB	34,48	64,67	0,0404	57,89	2,34

As médias diárias para os consumos de MS, MO, PB, PDR, PNDR, EE, FDN, CNF e NDT expressas em kg/dia e, MS e FDN expressas em porcentagem do peso vivo e MS em gramas por kg^{0,75}, com os respectivos coeficientes de variação (CV) são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5- Médias diárias para os consumos de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos (CNF), nutrientes digestíveis totais (NDT) e variação no peso vivo dos animais (g/dia), em função das diferentes fontes protéicas das rações

Item	Dietas				CV(%)
	FS	FA38	FA28	FSU	
	Consumo (kg/dia)				
CMS	18,96	19,38	19,56	18,57	5,10
CMO	18,00	18,20	18,21	17,43	5,05
PB	3,06	3,23*	3,12	2,92	5,06
PDR	1,47	1,56	1,69*	1,73*	7,59
PNDR	1,59	1,67*	1,44*	1,20*	3,11
EE	0,58	0,65*	0,52*	0,62*	3,10
FDN	7,85	8,89*	9,90*	7,36	6,12
CNF	7,20	5,73*	5,30*	7,45	6,48
NDT	13,88	12,64*	12,33*	13,35*	2,57
	Consumo (%PV)				
MS	3,29	3,33	3,40	3,22	4,90
FDN	1,36	1,53*	1,72*	1,27	5,85
	Consumo (g/kg ^{0,75})				
MS	161,08	163,56	166,44	157,85	4,88
	Variação do PV (g/dia)				
11 dias	591	514	257	477	152,69

^{1/} Médias na linha seguidas por (*) diferem do tratamento controle (FS) pelo teste de Dunnett (P<0,05); CV = coeficiente de variação. FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

Não houve diferença significativa (P>0,05) entre as dietas para os consumos de MS expressos nas diferentes unidades, e para os consumos de MO. Os consumos de MS obtidos para todas as dietas foram próximos aos encontrados por

Pereira (2003), na dieta contendo 15,5% de PB na MS da dieta, que foram de 19,11 kg/dia, 3,42 %PV e 166,28 g/kg^{0,75}, para vacas no terço inicial da lactação.

O NRC (2001) preconizou um consumo de MS variando de 18,2 a 19,8 kg/dia para vacas com média de 550 kg de peso vivo, produzindo entre 25 e 30 kg de leite corrigido para 3,5% de gordura e ganhando aproximadamente 0,200 kg/dia. Valores próximos aos observados para todos os tratamentos nesse experimento, que variaram de 18,57 a 19,56 kg/dia.

Apesar da dieta contendo um nível mais elevado de uréia (FSU), apresentar valores numéricos de consumo de MS um pouco inferiores, esses não diferiram ($P>0,05$) da dieta controle contendo FS, o que está de acordo com Valadares Filho et al. (2000), os quais estimaram que maiores consumos de MS em dietas com 43% de NNP, são obtidos com 37% de CNF.

Os dados de consumo obtidos com a dieta de elevado teor de uréia (FSU) estão condizentes com os relatados por Colovos et al. (1967), Holter et al. (1968), Plummer et al. (1971), Broderick et al. (1993) e Santos et al. (1998), mas contraditórios aos relatados por Oliveira et al. (2001), Silva et al. (2001) e Melo et al. (2003), os quais observaram redução no consumo de matéria seca com a inclusão de níveis elevados de uréia nas dietas.

O consumo de PB foi maior ($P<0,05$) quando os animais receberam a dieta FA38 em comparação à dieta controle (FS), possivelmente devido ao maior teor desse nutriente na dieta FA38 (Tabela 3), sendo que, não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para o consumo de PB entre as dietas FA28 e FSU em relação à FS. Os consumos de PB obtidos com todas as dietas estão próximos aos relatados por Pereira (2003), que foi em média de 3,01 kg/dia para vacas no terço inicial de lactação consumindo uma dieta com 15,5% de PB na MS total da dieta.

Os consumos de PDR foram maiores ($P<0,05$) com as dietas FA28 e FSU e não diferiram ($P>0,05$) para a dieta FA38 em relação à FS. Essas observações estão condizentes com os teores de PDR observados na Tabela 3, para as respectivas dietas. Os consumos de PNDR foram mais baixos ($P<0,05$) com as dietas com FA28 e FSU e mais altos ($P<0,05$) com a dieta contendo FA38 em relação à dieta controle (FS).

Os consumos médios de PDR e PNDR obtidos nesse trabalho de 1,47 e 1,59 kg/dia com a dieta FS foram diferentes daqueles observados por Pereira (2003). Esta autora alimentou vacas nos terços inicial e médio da lactação com

dietas contendo farelo de soja, fubá de milho e silagem de milho, e observou consumos de PDR de 1,90 e de PNDR de 1,11 kg/dia. Essa diferença é possivelmente explicada pelo maior valor de degradabilidade efetiva para o farelo de soja (63,70%), relatado por aquela autora em relação ao encontrado no presente trabalho (56,81%). Os consumos de PDR e PNDR sugeridos pelo NRC (2001), para vacas com um peso médio de 550 kg e produção de leite corrigida para 3,5% de gordura de 25 kg/dia são de 1,74 e 1,20 kg/dia, respectivamente. As dietas FSU (1,73 e 1,20) e FA28 (1,69 e 1,44) foram as que mais se aproximaram das recomendações do NRC (2001), enquanto as dietas FS (1,47 e 1,59) e FA38 (1,56 e 1,67) apresentaram consumos de PDR inferiores e de PNDR superiores aos sugeridos pelo NRC (2001).

Os consumos de EE foram maiores ($P < 0,05$) com as dietas FA38 e FSU e menores ($P < 0,05$) com a dieta FA28 em relação a dieta com FS, o que pode ser explicado pelas diferenças nos teores desse nutriente entre as dietas (Tabela 3) e pela ausência de diferença ($P > 0,05$) entre os consumos de MS.

Os consumos de CNF foram menores ($P < 0,05$) com as dietas FA38 e FA28 em relação à dieta FS, o que possivelmente é resultado do menor teor desse componente, observado para essas dietas (Tabela 3). Não foi observada diferença ($P > 0,05$) para o consumo de CNF com a dieta FSU em relação à FS. Os consumos de NDT foram menores ($P < 0,05$) quando os animais foram alimentados com as dietas FA38, FA28 e FSU em relação à dieta controle (FS). Esse fato pode ser explicado pelo menor teor de NDT nas dietas FA38 e FA28 (Tabela 3), enquanto o maior consumo numérico de MS para essas dietas não foi suficiente para compensar os menores teores de NDT nas mesmas.

Os consumos de FDN expressos em kg/dia e em %PV foram maiores ($P < 0,05$) quando os animais foram alimentados com dietas contendo farelos de algodão (FA38 e FA28) em relação à dieta controle (FS), o qual ficou próximo ao preconizado por Mertens (1994) para otimizar a ingestão de matéria seca ($1,2 \pm 0,1$ % do PV) e ao encontrado por Pereira (2003). As diferenças encontradas entre as dietas são justificadas pelo maior conteúdo de FDN nas dietas à base de farelos de algodão. Os maiores valores de consumo de FDN observados nas dietas FA38 e FA28, estão condizentes com o proposto por Valadares Filho et al. (2000), os quais estimaram que o consumo máximo de FDN foi obtido com 27% de CNF dietético.

Os valores de consumo de FDN observados com as dietas FA38 e FA28 (1,53 e 1,72 %PV) estão bem acima do preconizado por Mertens (1994). Segundo Allen (2000), reduções na ingestão de MS de vacas lactantes pela infusão de material inerte em até 25% do volume do retículo-rúmen, foram observadas somente quando os animais estavam em balanço energético negativo. No presente trabalho, todas as vacas ganharam peso o que pode explicar o maior consumo de FDN observado com FA38 e FA28. Apesar dessas dietas proporcionarem um maior enchimento ruminal, a ingestão total de MS não foi significativamente diferente entre as dietas, apesar de ter sido numericamente inferior para o FS em relação às dietas contendo farelo de algodão. Detmann et al.(2003), analisando um conjunto de dados obtidos em experimentos com bovinos confinados, alimentados com forrageiras tropicais, identificou subjetivamente, que a fase de transição para os controles físicos e metabólicos se encontra entre os níveis dietéticos de FDN de 39 a 44% da MS, sendo nesse intervalo, mantidos comuns ambas as fases. Concluíram que a estimativa do consumo de MS, por intermédio de um modelo bifásico estático, em bovinos consumindo forrageiras tropicais pode incorrer em erro devido a inconsistência do consumo de FDN durante a fase atribuída ao controle físico do consumo e, pelo fato de, possivelmente, a transição para a fase de controle metabólico ser representada por um intervalo, e não especificamente por um ponto de inversão de mecanismos regulatórios. Esse autor também cita, consumos de FDN (%PV) para bovinos superiores a 1,2 %PV em aproximadamente 39% dos dados analisados. Estando essas afirmações em concordância com Allen (2000), o qual afirma que diferenças observadas entre experimentos em relação ao declínio na IMS com o aumento do FDN dietético, sugerem que o efeito de enchimento do FDN difere entre as dietas.

Grings et al. (1991), ao submeter vacas em lactação a dietas com níveis crescentes de proteína, obtidos pela inclusão de farelo de algodão em substituição à cevada e milho, observaram consumos médios de FDN de 1,63% do PV, valor bem próximo ao descrito para a dieta contendo FA28. Mayer et al. (1997), trabalhando com diferentes fontes de PNDR, não encontraram diferenças no consumo de MS e FDN com a utilização de farelo de algodão em relação ao farelo de soja e grão de soja, observando consumos de FDN de 1,57 e 1,54 %PV para os tratamentos contendo farelo de algodão, valores bem próximos aos encontrados nesse trabalho. Diferenças no consumo de MS entre tratamentos à base de farelo de algodão em

relação ao farelo de soja, também não foram observadas nos experimentos de Barraza et al. (1991), Bernard (1997), Blackwelder et al. (1998), Imaizumi et al. (2002) e Mena et al. (2004).

Na Tabela 6 podem ser observados os coeficientes de digestibilidade aparente total da MS, MO, EE, PB, FDN, CNF e os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) em função das dietas, estimados utilizando a FDNi como indicador interno e dois dias de coleta de fezes, com os seus respectivos coeficientes de variação

Tabela - 6 Coeficientes de digestibilidade aparente médios totais da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE), fibra em detergente neutro (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF) e os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) obtidos para as quatro dietas, estimados utilizando a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno e dois dias de coleta de fezes

Item	Dietas				CV(%)
	FS	FA 38	FA 28	FSU	
CDMS	68,19	61,81*	59,85*	66,45*	3,01
CDMO	69,61	63,36*	61,04*	67,82*	2,73
CDPB	72,57	66,18*	68,39*	71,54	4,04
CDEE	82,65	87,14*	86,85*	81,81	2,37
CDFDN	50,87	44,97*	43,68*	47,43*	5,98
CDCNF	90,61	89,76	91,36	89,21*	2,14
NDT (%MS)	72,54	64,63*	63,05*	72,48	2,53

^{1/} Médias na linha seguidas por (*) diferem do tratamento controle (FS) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$); CV = coeficiente de variação. FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

Os coeficientes de digestibilidade da MS, MO e FDN obtidos para as dietas contendo FA38, FA28 e FSU foram inferiores ($P < 0,05$) aos observados com a dieta controle FS. Esses valores de digestibilidade para a MS, estão condizentes com os valores de degradabilidade efetiva observados (53,75; 63,93; 41,03 e 46,85%) para a MS do fubá de milho e dos farelos de soja, e de algodão com 28 e 38% de PB, respectivamente. Os coeficientes de digestibilidade do EE e da PB foram menores ($P < 0,05$) com todas as dietas à base de farelo de algodão e o coeficiente de digestibilidade dos CNF foi inferior ($P < 0,05$) com a dieta FSU. A menor

digestibilidade dos CNF na dieta FSU pode ser explicada pela maior proporção (36,75%) desse componente nessa dieta. Para a dieta rica em uréia (FSU), a menor digestibilidade da FDN, provavelmente deve-se a maior proporção de milho (62,01% MS), contido nessa dieta, concordando com Valadares Filho et al. (2000) e Detmann et al. (2003), os quais observaram redução na digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN) com aumento do CNF dietético. A menor digestibilidade da FDN com as dietas FA38 e FA28 possivelmente deve-se ao maior consumo desse nutriente em relação à dieta FS (Tabela 5)

O menor coeficiente de digestibilidade observado para PB na dieta contendo FA38, provavelmente deve-se ao maior consumo desse nutriente observado para essa dieta, como pode ser visto na Tabela 5, com a dieta FA28, essa observação pode estar associada ao maior consumo de MS, o qual é positivamente correlacionado com a taxa de passagem e inversamente com a digestibilidade. Os elevados coeficientes de digestibilidade observados para o EE nas dietas FA28 e FA38 (87,14 e 86,85%), respectivamente, podem ser devidos à menor concentração deste nutriente nestas dietas. Valores para essas variáveis bem próximos aos encontrados nesse trabalho também foram citados por Mayer et al. (1997).

Na Tabela 7, são apresentados os consumos das frações de nutrientes digestíveis (CFDND, CEED, CPBD, CCNFD) e CNDT observados no experimento e estimados pelas equações do NRC (2001), os parâmetros estimados pela equação de regressão entre as variáveis observadas e estimadas e sua correlação linear.

Tabela 7- Valores médios para os consumos de proteína bruta digestível (PBD, kg/dia), de extrato etéreo digestível (EED, kg/dia), de fibra em detergente neutro digestível (FDND, kg/dia), de carboidrato não fibroso digestível (CNFD, kg/dia) e NDT(kg/dia) para os valores observados e estimados pelas equações utilizadas no NRC (2001), com suas equações de regressão e de correlação linear

Item	Valores Médios ¹		Equação de Regressão				S _{xy}	Correlação Linear	
	Observado	Estimado	Intercepto	Valor p ²	Coeficiente	Valor p ³		Estimativa	Valor p ⁴
CPBD	2,158	2,342	1,2020	0,0001	0,5228	0,0008	0,1730	0,5177	0,0002
CEED	0,499	0,293	-0,3436	0,0017	1,2771	0,1824	0,0730	0,6854	<0,0001
CFDND	3,965	5,276	2,7820	<0,0001	0,6291	<0,0001	0,3490	0,7754	<0,0001
CCNFD	5,840	5,347	0,1053	0,6408	0,8976	0,0097	0,2390	0,9630	<0,0001
CNDT	13,085	12,501	4,1600	<0,0001	0,6375	<0,0001	0,5410	0,8220	<0,0001

¹/ Valores observados considerados como variável independente.

²/ H₀: $\rho = 0$; Ha: $\rho \neq 0$, ³/ H₁: $\rho = 1$; Ha: $\rho \neq 1$, ⁴/ H₀: $\rho = 0$; Ha: $\rho \neq 0$

Os valores para os interceptos foram diferentes de 0 ($P < 0,01$) para os consumos de CFDND, CEED, CPBD e CNDT e semelhantes a zero ($P > 0,64$) para CCNFD, enquanto coeficientes de inclinação diferentes de 1 ($P < 0,01$) foram observados para CFDND, CCNFD, CPBD e CNDT, sendo que este não diferiu ($P > 0,18$) para CEED. Considerando o resultado da análise para o CEED, onde a hipótese de nulidade para o intercepto foi rejeitada ($P < 0,01$) e a de nulidade para o coeficiente de inclinação aceita ($p > 0,18$), conclui-se que existe uma correspondência na variação, no entanto, com presença de vício constante, o qual corresponde à estimativa do intercepto (+0,6854). Já o resultado para CCNFD, onde a hipótese de nulidade para o intercepto foi aceita ($p > 0,64$) e a hipótese de nulidade para o coeficiente de inclinação foi rejeitada ($p < 0,01$), implica na existência de vício global de estimação (BGE). Os resultados para CFDND, CPBD e CNDT, onde ambas as hipóteses de nulidade foram rejeitadas ($P < 0,01$), mostram a presença de vícios nas estimações destes.

Essas observações podem ser melhores visualizadas nas Figuras 1, 2, 3, 4 e 5, onde estão representados os consumos de PBD, EED, FDND, CNFD e de NDT, respectivamente. Também pode-se observar que as equações propostas pelo NRC (2001) subestimaram os consumos de CNFD, EED e NDT e superestimaram os consumos de FDND e PBD.

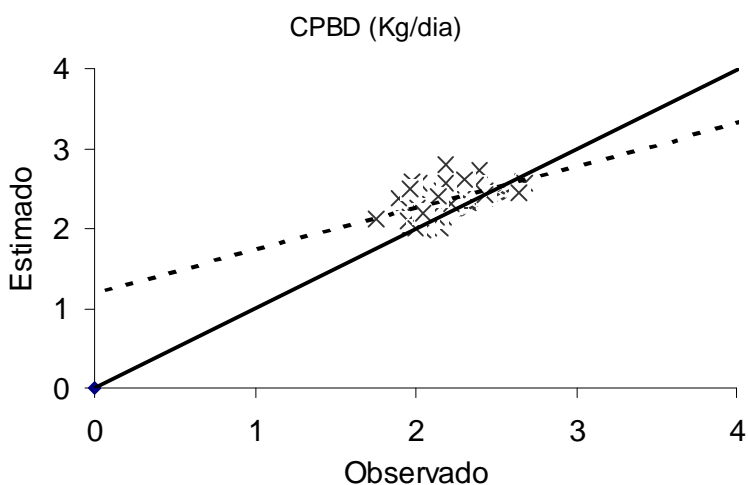


Figura 1 - Comportamento descritivo para a relação entre consumo de proteína bruta digestível observado e estimado pelo sistema de equações do NRC (2001), (a linha tracejada corresponde à reta de quadrados mínimos)

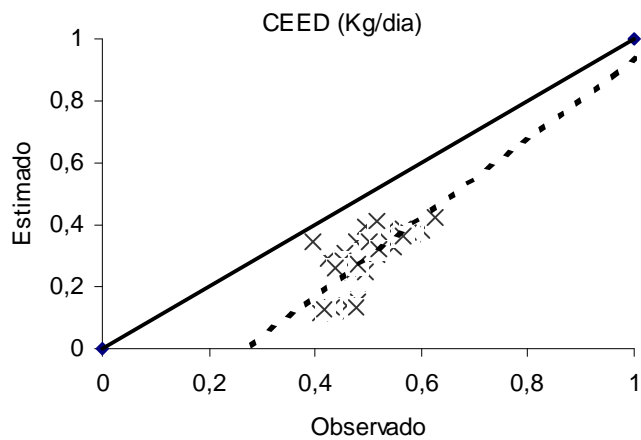


Figura 2 - Comportamento descritivo para a relação entre consumo de extrato etéreo digestível observado e estimado pelo sistema de equações do NRC (2001), (a linha tracejada corresponde à reta de quadrados mínimos).

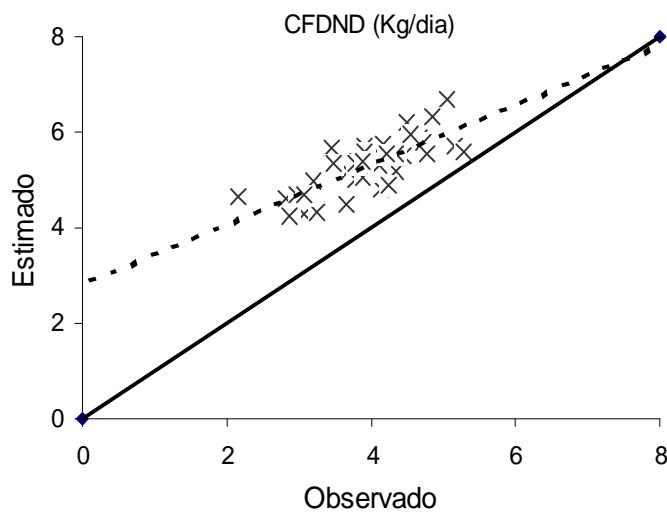


Figura 3 - Comportamento descritivo para a relação entre consumo de fibra em detergente neutro digestível observado e estimado pelo sistema de equações do NRC (2001), (a linha tracejada corresponde à reta de quadrados mínimos).

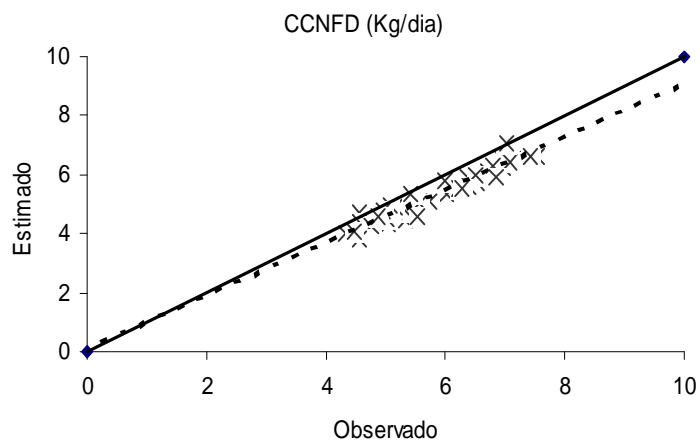


Figura 4 - Comportamento descritivo para a relação entre consumo de carboidratos não-fibrosos digestíveis observado e estimado pelo sistema de equações do NRC (2001), (a linha tracejada corresponde à reta de quadrados mínimos).

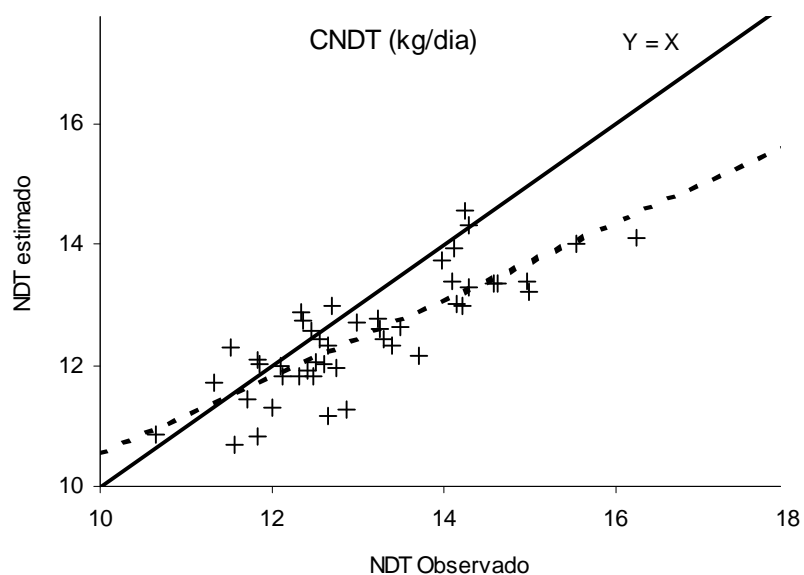


Figura 5 - Comportamento descritivo para a relação entre consumo de nutrientes digestíveis totais observado e estimado pelo sistema de equações do NRC (2001), (a linha tracejada corresponde à reta de quadrados mínimos).

As médias diárias para a produção e composição do leite, eficiência de utilização da MS e nitrogênio ingerido, com os respectivos coeficientes de variação, são apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 – Médias diárias para as produções de leite (PL) e de leite corrigido para 3,5% de gordura (PLG), produção e porcentagem de gordura e proteína no leite e eficiência de utilização do nitrogênio (kg N no leite / kg N ingerido) e da matéria seca ingerida (kg de leite / kg matéria seca ingerida) obtidas para as diferentes fontes protéicas das dietas

Item	Dietas				CV (%)
	FS	FA 38	FA 28	U	
PL (kg/d)	23,85	23,76	22,69	23,42	5,23
PLG (kg/d)	25,11	23,67	24,75	24,13	6,43
Eficiência MS	1,25	1,22	1,16*	1,29	5,29
Eficiência N	0,248	0,217*	0,224*	0,252	5,35
G (%)	3,85	3,53	4,07	3,73	5,30
G (g/dia)	911,50	825,01	919,79	862,50	9,63
PB (%)	3,19	2,98*	3,12	3,17	5,07
PB (g/dia)	756,92	702,36*	701,13*	732,25	6,14

1/ Médias na linha seguidas por (*) diferem do tratamento controle (FS) pelo teste de Dunnett (P<0,05); CV = coeficiente de variação. FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

Como pode ser observado, não houve diferença ($P>0,05$) para PL, PLG, G (%) e G (g/dia). A ausência de significância para a produção de leite pode ser explicada pela ausência de resposta no consumo de MS. No entanto, houve uma redução numérica de 1,16 kg de leite para os animais submetidos à dieta contendo FA28 em relação ao controle (FS), o que pode ser devido ao menor consumo de NDT observado na dieta com FA28 (Tabela 5). A ausência de diferença ($P>0,05$) para a PLG está de acordo com a ausência de significância ($P>0,05$) para os teores de gordura (G%) e para a produção diária de gordura (g/dia). Resultados semelhantes foram relatados por Bernard (1997), Mayer et al. (1997), Blackwelder et al. (1998) e Mena et al. (2001; 2004). Contudo, esses resultados são contrários aos relatados por Imaizumi et al. (2002), que observaram aumento linear significativo para teor e produção diária de gordura no leite com a inclusão de farelo de algodão, semelhantemente ao descrito por Grings et al. (1991).

Os resultados para PL e PLG obtidos no presente trabalho estão de acordo com os de Blackwelder et al. (1998), que observaram ser o farelo de algodão capaz de manter PL e PLG comparáveis ao farelo de soja, com a adição ou não de fontes de PNDR, em dietas com 17% PB na MS total. Também estão de acordo com os descritos por Van Horn et al. (1979), que compararam o farelo de algodão com os farelos de amendoim e de soja, em dietas com 16,4% de PB na MS total e não observaram reduções na produção de leite para animais alimentados com farelo de algodão em relação as demais dietas. Também Bernard (1997) concluíram que o farelo de algodão foi similar ao farelo de soja, quando a dieta continha soro de leite. Produções de leite semelhantes entre dietas contendo farelo de soja e de algodão foram também relatadas por Mayer et al. (1997) e Mena et al. (2001 e 2004).

A eficiência de utilização da MS foi diferente ($P<0,05$) com a dieta FA28, o que pode ser explicado pela associação numérica do maior consumo MS (Tabela 5) e a menor PL, observados para essa dieta. Resultados semelhantes foram também encontrados por Imaizumi et al. (2002). Os resultados obtidos nesse experimento para eficiência de utilização de matéria seca se encontram entre o intervalo médio (1,38 e 1,16) observado por Pereira (2003) para vacas nos terço inicial e médio da lactação, respectivamente. A eficiência de utilização de nitrogênio também foi menor ($P<0,05$) com as dietas à base de farelo de algodão, sendo essa observação explicada pela menor ($P<0,05$) produção diária de proteína no leite (PB g/dia) com

ambas as dietas e pelo menor ($P < 0,05$) teor de proteína do leite (PB%) com a dieta FA38.

Possivelmente essa redução no teor de PB do leite para a dieta contendo FA38, seja explicada pela ausência de farelo de soja nessa dieta, por que segundo Schwab, citado por Santos et al. (1998), a síntese de proteína do leite é sensível ao perfil de aminoácidos na digesta duodenal, e o perfil de aminoácidos do farelo de soja é inferior, somente, ao da proteína microbiana e ao da proteína da farinha de peixe. Assim, a redução no teor de PB do leite observada pode ser devido ao menor valor biológico da proteína do farelo de algodão em relação ao farelo de soja.

Segundo Blackwelder et al. (1998), o farelo de algodão possui uma menor concentração de lisina e metionina em relação ao farelo de soja. Esses autores encontraram diferença significativa na concentração plasmática de lisina (57,9 e 50,2 mol) mas não para a de metionina (17,7 e 17,1 mol) em vacas alimentadas com farelos de soja e algodão, respectivamente, mas não encontraram diferença significativa no teor protéico do leite (3,14 e 3,18%). Confirmando a sugestão de Coopock et al. (1987) que a diferença entre os farelos de soja e de algodão poderia ser atribuída aos teores de lisina.

Os limites de conversão do nitrogênio alimentar para nitrogênio no leite não são claramente definidos. Em uma tentativa para melhor estabelecer essa eficiência de conversão, foram avaliados 334 tratamentos, provenientes de 62 pesquisas, sendo determinado um valor médio de 0,270. Vários são os fatores afetando a eficiência de utilização de N, dentre esses, estão o cruzamento, a ordem de lactação, o estágio de lactação, o conteúdo de proteína do leite, a fonte de carboidratos e a quantidade e qualidade da proteína dietética (Chase, 2003).

Os resultados obtidos nesse experimento para eficiência de utilização de nitrogênio encontram-se próximo aos valores 0,253 e 0,274 observados por Pereira (2003) para vacas alimentadas com dietas à base de farelo de soja, fubá de milho e silagem de milho, nos terços inicial e médio da lactação, respectivamente. Imaizumi et al. (2002) também relataram valores de eficiência (0,27; 0,25 e 0,25) semelhantes aos obtidos nesse trabalho, para os tratamentos com 100% farelo de soja e aqueles em que o farelo de algodão substituiu 50 e 100% do farelo de soja, respectivamente.

A utilização da uréia em até 5% da MS seca do concentrado na dieta FSU, permite vislumbrar a possibilidade de uma maior inclusão de nitrogênio não protéico, proveniente desta fonte, em dietas para vacas lactantes, acima dos valores

tradicionalmente recomendados de 1% na MS da dieta total. Como pode ser observado na Tabela 8, não foi encontrado nesse trabalho, diferença significativa em termos de produção e composição do leite, eficiência de utilização da matéria seca e nitrogênio para síntese de leite para a dieta com elevado teor de uréia em relação à dieta contendo FS.

Conclusões

Vacas produzindo aproximadamente 25 Kg de leite por dia podem ser alimentadas com concentrado contendo 5% de uréia/sulfato de amônio na MS. O farelo de algodão com 38% de PB pode substituir o farelo de soja integralmente, quando a silagem de milho for utilizada na proporção de 60% da MS da dieta total.

Referências Bibliográficas

- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p. 1598-1624, 2000.
- ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 3063-3075, 1996.
- BARRAZA, M. L., COPPOCK C. E; BROOKS, K.N.. Iron Sulfate and Feed Pelleting to Detoxify Free Gossypol in Cottonseed Diets for Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science** v.74 p. 3457-3467, 1991.
- BERNARD, J. K. Milk production and composition responses to source of protein supplement in diets containing wheat middlings. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.938-942. 1997.
- BLACKWELDER J. T., HOPKINS, B. A., DIAZ, D. E., WHITLOW, L. W., and BROWNIE, C. Milk production and plasma gossypol of cows fed cottonseed and oilseed meals with or without rumen-undegradable protein. **Journal of Dairy Science**. v. 81, n. 11, p. 2934-2941, 1998.
- BRODERICK, G. A; CRAIG, W. M.; RICKER, D. B. Urea versus true protein as supplement for lactating dairy cows fed grain plus mixtures of alfalfa and corn silages. **Journal of Dairy Science**. v.76, p.2266–2274, 1993.
- BRODERICK, G. A. Effects of varying dietary protein and energy levelson the A production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.86, p.1370–1381, 2003.
- BRODERICK, G.A., CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.2964-2971, 1997.
- CHASE, L.E. Nitrogen utilization in dairy cows - what are the limits of efficiency ? In: CORNELL PROCEEDINGS CONFERENCE, 1., 2003. Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 2003. p.233 – 244.
- COCHRAN, R. C., ADANS, D. C., WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers : evaluation of four potential markers. **Journal of Dairy Science**. v. 63, p. 1476 – 1483, 1986.
- COLOVOS, N.F., HOLTER, J.B., DAVIS, H.A. et al. Urea for lactating dairy cattle. II Effect of various levels of concentrate urea on nutritive value of the ration. **Journal of Dairy Science**.v.50, n.4, p. 523-526, 1967.
- COOPOCK,C.E.; LANHAM, J. K.; HORNER, J. L. A review of the nutritive value and utilization of whole cottonseed, cottonseed meal and associated by-products by dairy cattle. **Animal Feed Science and Technology**. v. 18, p. 89-129, 1987.
- DETMANN, E.; QUEIROZ, A. C.; CECON, P. R. et al. Consumo de fibra em detergente neutro por bovinos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, n.6, p.1763 – 1777, 2003 (supl.1).
- FERREIRA, A.H. **Eficiência de sistemas de produção de leite: uma aplicação da Análise envoltória de dados na tomada de decisão**. Dissertação de Mestrado. Viçosa:UFV, 2002.
- GRINGS, E.E.; ROFFLER, R.E.; DEITELHOFF, D. P. Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfalfa-based diets. **Journal of Dairy Science**. v.74, p.2580-2587. 1991.

- HALL, M.B. ; AKINYODE, A. Cottonseed hulls: working with a novel fiber source. In: Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, 11., 2000, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville,. p.179-186, 2000
- HOLTER, J.B., COLOVOS, N.F., DAWIS H.A. Urea for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science.** v.51, p.1243-1248, 1968.
- IMAIZUMI, H.; SANTOS, F. A. P.; VOLTOLINI, T. V. et al., Utilização de farelo de algodão como substituto do farelo de soja em dietas para vacas holandesas em lactação. 39^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Recife 2002. **Anais...** Recife: SBZ, 2002.
- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Comparação de indicadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002.
- MAYER, L.R.R.; COELHO DA SILVA, J. F.; VALADARES FILHO, S. C et al. 1997. Rações com diferentes teores de proteína degradada no rúmen para vacas em lactação. 1. Consumo, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v.26, n.4, p.813 – 823, 1997.
- MELO, A.A.S.; FERREIRA, M. A.; VERÁS, A. S. C et al. Substituição Parcial do Farelo de Soja por Uréia e Palma Forrageira (*Opuntia fícus indica* Mill) em Dietas Para Vacas em Lactação. I. Desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v.32, n.3, p.727-736, 2003.
- MENA, H.; SANTOS, J. E. P.; HUBER, J. T. et al. The effects of feeding varying amounts of gossypol from whole cottonseed and cottonseed meal in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science.** v. 84, n.10, p.2231-2239, 2001.
- MENA, H.; SANTOS, J. E. P.; HUBER, J. T. et al. The effects of varying gossypol intake from whole cottonseed and cottonseed meal on lactation and blood parameters in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science.** v. 87, n.8, p.2506-2518, 2004.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, G.C. Jr, COLLINS, M., MERTENS, D.R. and MOSER, L.E. (eds), **Forage Quality, Evaluation, and Utilization.** American Society of Agronomy, Crop Science Society of American and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, p. 450–493, 1994.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7 ed. Whashington, D.C. National Academic Press, 2001. 381 p.
- OLIVEIRA, A.S., VALADARES, R.F.D., VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite em vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v.30, n.4, p. 1358-1366, 2001 a.
- ORSKOV, E.R. ; McDONALD, I. Estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v.92, p. 499-503, 1979.
- PEREIRA, M. L. A. **Proteína nas dietas de vacas nos terços inicial e médio da lactação.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- PREGNOLATTO, W., PREGNOLATTO, N.P. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz - métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3.ed., São Paulo. v.1, p.533, 1985.

- PLUMMER, J.R., MILES, J.T., MONTGOMERY, M.J. Effect of urea in the concentrate mixture on intake and production of cows fed corn silage as the only forage. **Journal of Dairy Science** . v.54, n.12, p.1861-1865, 1971.
- ROCHA JÚNIOR, V.R, VALADARES FILHO, S.C., BORGEM, A.M, et al. Estimativa do valor energético dos alimentos e validação das equações propostas pelo NRC (2001). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.480-490, 2003.
- SANTOS, F. A. P.; SANTOS, J. E. P.; THEURER, C.B. et al. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12 year literature review. . **Journal of Dairy Science** . v. 81, p. 3182-3213, 1998.
- SILVA, J.D., QUEIROZ, A.C.,2002. **Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)**.3. ed. Viçosa : Editora UFV – Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 1 consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30, n.5, p. 1639-1649, 2001.
- SKLAN, D., ASHKENAZI, R., BRAUN, A. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2463-2472, 1992.
- VAN HORN, H.H., ZOMETA, C.A., WILCOX, C.J., MARSHALL, S.P. and HARRIS, B., Jr. Complete rations for dairy cattle. VIII. Effect of percent and source of protein on milk yield and ration digestibility. **Journal of Dairy Science** . v. 62, p. 1086-1093, 1979.
- VALADARES FILHO, S.C., BRODERICK, G.A., VALADARES, R.F.D. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on nutrient utilization and milk production. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p.106-114, 2000.
- VALADARES FILHO, S.C. Utilização da técnica *in situ* para a avaliação dos alimentos. Simpósio Internacional de Produção de Ruminantes, Maringá 1994. **Anais...** XXXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 141p.
- VALADARES FILHO, S.C.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CAPPELLE, E. R. **Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Bovinos**. 1ª Edição Suprema Gráfica Ltda. Viçosa: UFV; DZO; DPI, 2002, 297p.
- WEISS, W. P.; CONRAD, H. R.; St. PIERRE, N. R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**. v. 39, p. 95-110, 1992.

Efeitos de Indicadores e Dias de Coleta na Digestibilidade dos Nutrientes, Estimativa da Síntese de Proteína Microbiana e Concentrações de Uréia em Vacas Alimentadas com Diferentes Fontes de Proteína

Resumo: Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa entre puras e mestiças, distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4, organizados de acordo com os dias em lactação, com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes fontes protéicas dietéticas, sobre a síntese e eficiência de síntese de proteína microbiana, sobre a concentração de nitrogênio uréico no plasma (NUP) e no leite (NUL) e sobre a concentração de nitrogênio amoniacal e o pH ruminal. Também avaliou-se o efeito de dois períodos de coleta de fezes (dois ou seis dias) em intervalos de 26 horas, e de dois indicadores: fibra insolúvel em detergente neutro ou fibra insolúvel em detergente ácido indigestíveis (FDNi ou FDAi), para estimar a excreção de matéria seca fecal (EMSF), o coeficiente de digestibilidade (CD) dos nutrientes e os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT). Como volumoso foi utilizada 60% de silagem de milho na base da MS total. Os concentrados foram constituídos de diferentes fontes protéicas (FS - farelo de soja; FA38 – farelo de algodão com 38%PB; FA28 - farelo de algodão com 28%PB e FSU – farelo de soja mais 5% de uréia/sulfato de amônio na MS do concentrado). Os quatro períodos experimentais tiveram duração de 18 dias cada, sendo 11 dias destinados à adaptação dos animais às dietas e sete dias para a coleta de dados. As coletas *spot* de urina e de sangue foram realizadas no 18^o dia do período experimental, quatro horas após o fornecimento da alimentação aos animais, no período da manhã. As amostras de fezes foram coletadas em intervalos de 26 horas a partir do 12^o até o 17^o dia do período experimental, tendo início às 8:00 e término às 18:00 horas, respectivamente. Não foram observados efeitos dos dias de coleta de fezes e dos indicadores para as estimativas da EMSF, dos CD nutrientes e dos teores de NDT. Também não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre as dietas para o volume urinário (V), a excreção total de derivados de purinas (PT), a síntese e eficiência de síntese de PB microbiana, expressa em g de PB/kg de NDT consumido. As concentrações de NUP e NUL também não diferiram ($P>0,05$) entre as dietas. Conclui-se que a FDNi foi o indicador mais preciso, que dois dias de coleta de fezes foram suficientes para estimar a EMSF, a digestibilidade dos nutrientes e os teores de NDT, e que as concentrações NUP e NUL, e a síntese de PB microbiana, não foram influenciadas pelas diferentes fontes de proteína dietéticas.

Palavras-chave: digestibilidade, farelo de algodão, farelo de soja, nitrogênio uréico no leite, purinas, uréia.

Markers and Collection Days Effects on Nutrients Digestibilities, Estimation of Microbial Protein Synthesis and Urea Concentrations in Dairy Cows Fed with Different Protein Sources

Abstract: Twelve Holstein and cross-bred dairy cows were used in this trial and were distributed in a three latin square design (4x4), according to days in milk, aiming at evaluate the effect of different protein sources on efficiency of microbial protein synthesis, plasma (PUN) and milk (MUN) urea nitrogen concentration, ruminal ammonia concentration and pH. The effect of two periods of fecal collection was also evaluated (two or six days) in 26 hours intervals. The effect of two markers (insoluble neutral detergent fiber (NDFi) or insoluble acid detergent fiber indigestible (ADFi)), on the estimate of fecal dry matter excretion (FDME), on the digestibility coefficient (DC) of the nutrients and on the total digestible nutrients (TDN) content of the diets was evaluated as well. A corn silage based diet (60% of the total dry matter) was used and the concentrate was formulated with different proteins sources (SM – soybean meal, CM38 – cottonseed meal with 38% of crude protein, CM28 - cottonseed meal with 28% of crude protein and SMU – soybean meal plus 5% of urea/ammonium sulfate in the concentrate dry matter). The four experimental periods lasted 18 days each, being the last seven days used to sample collections. The means comparisons were always made in relation to the control diet (SM). Urine (spot) and blood collections were accomplished at the 18th day of each experimental period, at approximately four hours after the morning feeding of the animals. Fecal samples were obtained in 26 hour intervals, beginning at the 12th (08:00 h) and lasting until the 17th day (18:00h) of each experimental period. Fecal collection days and markers had no effect on the estimates of FDME, on the nutrients digestibility and on the TDN content of the diets. Differences among diets for urinary volume (V), total excretion of purine derivatives (PT), microbial CP synthesis and efficiency of synthesis, expressed in g of CP/kg of intake TDN, were also not detected. PUN and MUN concentrations did not differed ($P>0,05$) among the diets. It was concluded that NDFi was the most precise marker and that two days of fecal collection were enough to estimate FDME and to obtain the nutrients digestibilities and the contents of TDN of the diets. PUN and MUN concentrations and microbial CP synthesis and efficiency of synthesis were not influenced by the different dietary protein sources.

Key words: cottonseed meal, digestibility, milk urea nitrogen, purine, soybean meal, urea

Introdução

A função básica da produção de leite em animais especializados é converter fontes de alimentos não competitivas e de baixa qualidade em proteína de alta qualidade para o consumo humano. Frequentemente a quantidade e qualidade da proteína absorvida no intestino delgado podem limitar a produção de leite (Nousiainen et al., 2004).

Na prática, o ajuste da ingestão de proteína e energia é difícil para se obter. Perdas durante o armazenamento e a seleção da dieta pelo animal, podem explicar porque os alimentos analisados não são completamente representativos dos alimentos realmente consumidos. Conseqüentemente, outros parâmetros que são facilmente mensuráveis podem ser de grande valor prático como indicadores adicionais para a manipulação do suprimento de proteína (Hof et al., 1997).

Portanto, existe a necessidade de um diagnóstico para monitorar a adequação da nutrição protéica, oferecendo a oportunidade para otimizar a eficiência de utilização de nitrogênio para ambos, produção de proteína no leite e emissão de nitrogênio para o ambiente. O nitrogênio uréico no plasma (NUP) é o principal produto final do metabolismo do nitrogênio em animais ruminantes, e altas concentrações deste são indicativos de ineficiência na utilização do nitrogênio dietético (Nousiainen et al., 2004). Contudo, o NUP é difícil para ser medido rotineiramente. Entretanto, é bem estabelecido que a uréia equilibra-se rapidamente com os fluidos corporais, entre eles o leite, sendo que isso pode ser responsável pela alta correlação existente entre a concentração de nitrogênio uréico no leite (NUL) e NUP (Broderick & Clayton, 1997). Devido a concentração de NUL ser determinada facilmente, ela pode ser usada como parâmetro para monitorar a nutrição protéica de vacas leiteiras (Schepers & Meijer, 1998).

Na nutrição protéica de ruminantes é de fundamental importância uma estimativa acurada da síntese de proteína microbiana ruminal e a sua contribuição em termos de aminoácidos digestíveis para o animal. Esquemas de alimentação que reduzam a produção de proteína microbiana, afetam a quantidade e a qualidade da proteína que chega ao intestino delgado, por isso, a habilidade para monitorar a síntese microbiana é importante (Moscardini et al., 1998).

O fluxo de nitrogênio (N) microbiano para o duodeno pode ser estimado a partir da excreção urinária de derivados de purina (principalmente alantoína e ácido

úrico), sendo que a quantidade de ácido nucléico microbiano e conseqüentemente a síntese microbiana ruminal são proximamente correlacionadas com a excreção urinária de derivados de purina (Moscardini et al., 1998). González-Ronquillo et al. (2004) demonstraram a utilidade dos derivados de purina urinários como um significativo meio de detecção de alterações na síntese microbiana ruminal, pelo menos com a mesma eficiência do método baseado na medição do fluxo duodenal pela técnica de dois indicadores.

Segundo Valadares et al. (1999), uma única amostra *spot* de urina, de cada vaca em cada período experimental, utilizada para quantificação do volume urinário baseado na excreção de creatinina, produziu aproximadamente a mesma estimativa da excreção urinária de derivados de purina e conseqüentemente da produção de N microbiano, quando comparado à coleta total de urina.

A caracterização do valor nutritivo dos alimentos apresenta grande importância para os ruminantes, pois através dele pode-se inferir sobre a sua utilização por estes animais. O conceito de valor nutritivo envolve consumo, digestibilidade e eficiência de utilização do alimento (Freitas et al. 2002). Vários métodos utilizam indicadores inertes para se estimar a produção fecal e conseqüentemente, a digestibilidade dos nutrientes. Essas determinações estão baseadas na razão entre a quantidade do indicador administrado ao animal e sua concentração nas fezes (Aroeira, 1997).

Segundo Berchielli et al. (2000), os indicadores podem ou não estar presentes naturalmente na dieta, subdividindo-se em internos e externos. Entre os indicadores internos têm sido estudado alguns componentes da fração fibrosa dos alimentos, como a fibra em detergente neutro (FDNi) e a fibra em detergente ácido (FDAi), indigestíveis.

O presente trabalho foi conduzido para avaliar o efeito das diferentes fontes de proteína dietéticas sobre a síntese de proteína microbiana, calculada a partir da excreção urinária de derivados de purina, sobre a concentração de nitrogênio uréico no plasma e no leite e sobre a concentração de nitrogênio amoniacal e o pH ruminal. Também avaliou-se o efeito de dois períodos de coleta de fezes (dois ou seis dias) em intervalos de 26 horas, e de dois indicadores: fibra insolúvel em detergente neutro ou fibra insolúvel em detergente ácido indigestíveis (FDNi ou FDAi) para estimar a excreção de matéria seca fecal (EMSF), o coeficiente de digestibilidade (CD) dos nutrientes e os teres de NDT.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Unidade de Ensino Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG. Foram utilizados 12 animais da raça Holandesa, entre puros e mestiços, com um peso médio de 550 kg e produção de leite de aproximadamente 25 kg por dia, distribuídos em três quadrados latinos (QL) 4 X 4, organizados de acordo com os dias em lactação. A proporção dos ingredientes na mistura de concentrados e a composição das dietas experimentais podem ser observadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Foram avaliadas quatro dietas constituídas de diferentes fontes protéicas: FS (farelo de soja); FA38 (farelo de algodão com 38% de PB); FA28 (farelo de algodão com 28% de PB) e FSU (farelo de soja com 5% de uréia/sulfato de amônio). Utilizou-se 60% de silagem de milho na base da MS total para todas as dietas. Os concentrados foram formulados de forma isoprotéica (aproximadamente 26% de PB na base da matéria natural) e as dietas continham aproximadamente 15,5% de PB na MS, conforme proposto por Pereira (2003). Com exceção da dieta FSU, em todas as demais foram adicionados 1,5% de uréia/sulfato de amônio na base da MS total dos concentrados. Sendo que na dieta FA28 foi incluída um pouco de farelo de soja, de modo a permitir que essa alcançasse o nível de 26% de PB na MN da dieta.

Tabela 1- Proporção dos ingredientes constituintes na mistura de concentrados, expressa na base da matéria seca

Ingredientes	Concentrados			
	FS	FA 38	FA 28	FSU
Fubá de milho	43,67	29,81	15,42	62,01
Farelo de Soja	41,61	-	14,39	19,77
Farelo de Trigo	10,00	10,00	10,00	10,00
F. Algodão 38	-	55,47	-	-
F. Algodão 28	-	-	55,47	-
Uréia /SA	1,50	1,50	1,50	5,00
Mist. Mineral	3,22	3,22	3,22	3,22

Uréia / SA = 10% de sulfato de amônio, Mistura mineral = Fosfato Bicálcico (20%), Calcário (40,84%), Cloreto de Sódio (32,44%), Flor de Enxofre (5,84%), Sulfatos de Cobalto (0,003%), Cobre (0,083%) e Zinco (0,775%), Iodato de Potássio (0,006%) e Selenito de Sódio (0,005%). FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

Tabela 2 - Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), proteína degradada no rúmen (PDR), proteína não degradada no rúmen (PNDR), compostos nitrogenados não protéicos (NNP) e insolúveis em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para proteína e cinzas (FDNcp), carboidratos não fibrosos (CNF), lignina e NDT estimado, obtidos para as quatro dietas

Item	Dietas			
	FS	FA38	FA28	FSU
MS (%)	53,03	53,32	53,46	53,17
MO ¹	94,23	93,91	93,98	94,69
PB ¹	14,71	15,37	14,65	14,62
PDR ¹	10,01	10,49	10,80	11,45
PNDR ¹	4,71	4,88	3,85	3,17
NNP ²	35,32	35,75	36,35	46,25
NIDA ²	1,66	1,54	1,70	1,64
EE ¹	2,26	2,45	1,91	2,45
FDN ¹	44,02	49,39	52,90	43,87
FDNcp ¹	39,48	46,20	48,45	39,76
CNF ¹	34,13	27,59	25,42	36,75
LIGNINA ¹	2,44	4,36	5,05	2,41
NDT _{est} ^{1,3}	65,83	64,04	61,80	67,90

1- %MS; 2- % do N total; 3- estimado pelas equações do NRC (2001), para um consumo de três vezes a manteça. FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

O experimento foi constituído de quatro períodos experimentais com duração de 18 dias cada, sendo os 11 primeiros destinados a adaptação dos animais às dietas e o restante para a coleta de dados. Os animais foram alojados em baias individuais providas de cocho e bebedouro automático, e a alimentação foi oferecida na forma de mistura completa *ad libitum*, duas vezes ao dia, após as ordenhas da manhã e da tarde, de modo a permitir 5 a 10% de sobras em relação a matéria natural do alimento oferecido.

As ordenhas foram realizadas duas vezes ao dia, às 6:00 e 16:00 horas, sendo as produções de leite medidas e no 15^o dia, no período de coleta, foi feita uma amostra por animal em cada uma das ordenhas, sendo posteriormente preparada

uma amostra composta, proporcional as produções da manhã e da tarde, segundo recomendado por Broderick & Clayton (1997). A amostra composta foi desproteïnizada, pela filtração em papel de filtro da mistura de 10 ml de leite com 5 ml de ácido tricloroacético a 25 %, por aproximadamente 30 minutos, e congelada a -20°C , para posteriormente serem feitas análises de uréia e alantoína.

No 18^o dia do período experimental foi coletada, quatro horas após o fornecimento do alimento uma amostra *spot* de urina de cada animal, sendo que, alíquotas de 10 ml de urina foram diluídas em 40 ml de ácido sulfúrico 0,036 N e congeladas a -20°C , para posteriormente serem feitas análises para a determinação de derivados de purinas (ácido úrico e alantoína), creatinina e uréia, como descrito por Valadares et al. (1997).

No mesmo dia, também quatro horas após o fornecimento do alimento, foi coletada uma amostra de sangue em cada um dos animais, por intermédio de uma punção na artéria coccígea com um coletor contendo acelerador de coagulação, sendo que estas amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos e o soro resultante congelado a -20°C , para posteriormente serem feitas análises de uréia.

A uréia foi quantificada na amostra *spot* de urina diluída, no plasma e no leite desproteïnizado, e a creatinina e o ácido úrico foram determinados na urina diluída, utilizando-se *kits* comerciais (Labtest Diagnóstica S.A.). O N-uréico foi obtido, multiplicando-se o teor de uréia no plasma e no leite por 0,466.

As análises de alantoína na urina *spot* diluída e no leite desproteïnizado foram feitas pelo método colorimétrico, conforme método de Fujihara et al. (1987), descrito por Chen & Gomes (1992).

O volume urinário médio diário foi obtido, dividindo-se a excreção total de creatinina (concentração de creatinina em mg/kg de PV multiplicada pelo peso vivo) pela concentração de creatinina na amostra *spot* de urina, sendo o valor de 24,4 mg/kg de PV de creatinina, utilizado para a estimativa do volume urinário. Esse valor foi a média encontrada por Pereira (2003), para vacas nos terços inicial e médio da lactação. A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e das quantidades de alantoína secretadas no leite, expressas em mmol/dia.

As purinas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (Y, mmol/dia), por intermédio da equação $Y = 0,85X + 0,385PV^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação das purinas absorvidas como derivados

de purina e $0,385PV^{0,75}$ é a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al., 1990). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Y, gN/dia) foi calculada em função das purinas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando-se a equação de Chen & Gomes, (1992): $Y = 70X / (0,83 \times 0,134 \times 1000)$, em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mmol); 0,134 a relação N-purina / N-total nas bactérias (Valadares et al., 1999); e 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas.

Para a determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes, foram utilizadas a fibra insolúvel em detergente neutro e ácido, indigestíveis (FDNi ou FDAi) como indicadores internos, obtidos após 144 horas de incubação *in situ* dos alimentos fornecidos, sobras e fezes, utilizando sacos Ankon® (filter bag F57) segundo Cochran et al. (1986). As amostras de fezes foram coletadas em intervalos de duas horas à partir das 8:00 no primeiro dia até às 18:00 horas no sexto dia do período de coletas. Foram feitas duas amostras compostas de fezes, a primeira envolvendo os seis dias de coleta e a segunda usando dois dias (12^o e 16^o) de coleta (8:00 e às 16:00 horas), conforme descrito por Ítavo et al. (2002).

Os valores de pH e N-NH₃, foram aferidos em três animais fistulados no rúmen, obtendo-se um número de 12 observações para cada uma das variáveis, provenientes de quatro tratamentos e três repetições. Esses dados não foram analisados em nenhum delineamento estatístico, sendo a média de seus valores apresentados, acompanhados somente do erro padrão da média associado a cada uma das estimativas.

As análises estatísticas foram feitas segundo o delineamento em quadrado latino, sendo aplicado o teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade, no qual as dietas contendo FA38, FA28 e FSU foram comparadas com a dieta controle (FS), para todas as variáveis analisadas, com exceção da comparação feita entre dias de coleta de fezes (dois ou seis) e indicadores (FDNi ou FDAi), no qual utilizou-se um esquema de parcelas sub-subdivididas, onde as parcelas foram compostas pelas dietas, as sub-parcelas pelos dias de coleta de fezes e as sub-subparcelas pelos indicadores.

Resultados e Discussão

As médias diárias para as excreções de matéria seca fecal (EMSF) e os coeficientes de digestibilidade (CD) da MS, EE, PB, FDN, CNF e os teores de NDT

estimados, utilizando FDNi ou FDAi como indicador interno, em dois ou seis dias de coleta de fezes, podem ser observadas na Tabela 3. Devido a ausência de interação ($P > 0,05$) entre os dias de coleta e indicadores, as médias correspondentes aos dias de coleta não foram consideradas durante a confecção da Tabela 3.

Observa-se que houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os dois indicadores para estimar a EMSF e os coeficientes de digestibilidade da CDMS, CDPB, CDFDN, CDCNF, mas não para o CDEE. Sendo que a FDAi superestimou a excreção de matéria seca fecal em relação a FDNi, o que refletiu em uma subestimação dos coeficientes de digestibilidade para a MS, PB, FDN e CNF. Embora exista diferença estatisticamente significativa entre os indicadores, essa, pode ser explicada pelo grande número de graus de liberdade (84) associado ao resíduo da sub-subparcela e pelos baixos coeficientes de variação, os quais indicam boa precisão e alta confiabilidade dos dados.

Tabela 3- Médias diárias para as excreções de matéria seca fecal (EMSF) e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE), fibra em detergente neutro (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF) e os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) estimadas, utilizando a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) ou a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) como indicadores internos

Variável	Médias ¹		CV (%)	Erro padrão	
	FDNi	FDAi		FDNi	FDAi
EMSF (kg/d)	6,85b	7,07a	6,33	0,107	0,125
CDMS (%)	64,22a	63,13b	3,54	0,465	0,548
CDMO (%)	65,60a	64,56b	3,31	0,469	0,550
CDPB (%)	69,78a	68,84b	3,05	0,455	0,535
CDEE (%)	84,51a	84,05a	2,64	0,532	0,565
CDFDN (%)	46,85a	45,28b	7,29	0,602	0,704
CDCNF (%)	90,22a	89,91b	0,85	0,277	0,297
NDT (%MS)	68,36a	67,36b	3,20	0,538	0,606

¹/ Médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste F ($P < 0,05$)

Essas pequenas diferenças entre as estimativas de EMSF e dos CD dos nutrientes obtidas pelos dois indicadores, podem não ser biologicamente significantes, o que estaria de acordo com Berchielli et al. (1998), os quais não encontraram diferença ($P>0,05$) entre o FDNi e o FDAi para estimar a digestibilidade da MS e MO. Pode-se inferir que ambos os indicadores foram confiáveis para estimar a EMSF. Contudo, o mais preciso nesse experimento foi a FDNi, devido ao menor erro padrão associado às suas estimativas (Tabela 3).

Na Tabela 4, podem ser observados os valores das médias diárias e os respectivos coeficientes de variação para as excreções de matéria seca fecal e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, da matéria orgânica, do extrato etéreo, da proteína bruta, da fibra em detergente neutro, dos carboidratos não fibrosos e os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT), estimados usando-se dois ou seis dias de coleta de fezes durante o período diurno e, utilizando a fibra insolúvel em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno.

Tabela 4- Médias diárias para as excreções de matéria seca fecal (EMSF), e coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE), fibra em detergente neutro (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF) e os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) estimados utilizando a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador interno e dois ou seis dias de coleta de fezes

Item	Dias de amostragem		CV(%)
	2 dias	6 dias	
EMSF (kg/dia)	6,84a	6,87a	5,50
CDMS (%)	64,30a	64,12a	3,01
CDMO (%)	65,70a	65,51a	2,73
CDPB (%)	69,91a	69,64a	4,04
CDEE (%)	84,41a	84,59a	2,37
CDFDN (%)	46,85a	46,85a	5,98
CDCNF (%)	90,37a	90,07a	2,14
NDT (%MS)	68,45a	68,28a	2,53

¹/ Médias na mesma linha ,seguidas por letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste F ($P<0,05$)

Observa-se que os resultados obtidos nesse experimento não diferiram significativamente ($P>0,05$) entre os dias de coleta, para todas as variáveis analisadas, permitindo-nos sugerir que dois dias (8:00 e às 16:00 h) de coleta de fezes são suficientes para estimar a excreção de matéria seca fecal, a digestibilidade e conseqüentemente os teores de nutrientes digestíveis (NDT). Também, Ítavo et al. (2002) não encontraram diferença entre dois ou seis dias de coleta de fezes, quando compararam o óxido de cromo com a FDAi para estimar a digestibilidade aparente total da MS.

A utilização de dois dias para as coletas de fezes possibilita à obtenção dos coeficientes de digestibilidade de modo mais prático e rápido, em experimentação com animais sob regime de confinamento. Diminuindo-se a mão-de-obra, o tempo e o *stress* causado pelo manejo dos animais. Espera-se que esses resultados possam também ser aplicados em condições de pastejo.

As médias diárias para as estimativas do volume urinário (V), da excreção urinária de uréia, alantoína e ácido úrico, da secreção láctea de alantoína e da excreção total de derivados de purinas, além da estimativa de síntese de proteína microbiana e sua eficiência em termos de NDT consumido, podem ser observadas na Tabela 5.

Não foi encontrada diferença ($P>0,05$) para as estimativas do volume urinário, inferindo-se que a concentração de creatinina na urina não foi afetada pelas diferentes fontes protéicas da dieta. Pereira (2003) não observou efeito dos níveis crescentes de proteína bruta dietética sobre a excreção de creatinina urinária. Oliveira et al. (2001) também relataram ausência de significância de níveis crescentes de compostos nitrogenados não protéicos dietéticos sobre a excreção urinária de creatinina (23,41mg/kgPV), semelhante ao valor de 23,6 mg/kgPV observado por Silva et al. (2001). Chizzotti (2004), avaliando a excreção de creatinina em vacas com diferentes níveis de produção de leite (média 32,60; 18,54 e 5,88 kg/dia), não observou variação significativa na excreção urinária de creatinina, obtendo o valor médio de 24,04 mg/kg de PV.

Segundo Pereira (2003), aumentos na excreção urinária de vacas no terço inicial da lactação em função dos níveis crescentes de proteína bruta na dieta, podem estar associados aos aumentos no consumo de MS, sendo que, uma possível explicação para a ausência de efeito observada nesse experimento seria a ausência de diferença significativa para consumo de MS.

Tabela 5- Médias diárias e coeficientes de variação (CV) para o volume urinário (V), excreções urinárias de uréia (U), alantoína (ALA), ácido úrico (ACU), a secreção de alantoína no leite (ALL), purinas totais (PT) e estimativas da síntese diária de compostos nitrogenados microbianos (NMIC) e proteína bruta microbiana (PB) eficiência microbiana (EM) obtidas para as diferentes dietas

Item	Dietas				CV (%)
	FS	FA38	FA28	FSU	
V (L)	14,37	14,29	14,12	12,93	20,90
U (mg/ kg PV)	577,85	507,17	663,21*	598,96	11,98
ALA (mmol/dia)	362,21	326,25	377,45	349,36	13,80
ACU (mmol/dia)	43,34	39,84	37,16	42,16	30,57
ALL (mmol/dia)	3,23	2,78	2,64	3,09	39,60
PT (mmol)	408,77	368,88	417,26	394,62	13,71
NMIC (g/dia)	268,99	238,86	274,93	258,64	15,50
PBMIC (g/dia)	1681,15	1492,86	1718,29	1616,51	15,50
EM (g PB/kgNDT)	122,98	118,51	136,71	120,74	16,25

^{1/} Médias na linha seguidas por (*) diferem do tratamento controle (FS) pelo teste de Dunnett (P<0,05); CV = coeficiente de variação. FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

A excreção urinária de uréia (mg/kgPV) foi significativamente (P<0,05) maior com a dieta FA28 em relação à dieta controle (FS). Provavelmente essa observação esteja relacionada com o baixo teor de CNF dessa dieta, o qual foi bastante inferior aos 35% CNF, sugeridos por Valadares et al. (1999), para maximizar a utilização dos compostos nitrogenados não protéicos dietéticos. Oliveira et al. (2001) relataram aumento linear significativo na excreção urinária de uréia com o fornecimento de níveis crescentes de NNP na dieta, obtendo o valor máximo de 374,46 mg/kgPV, os quais foram inferiores aos valores de 577,85; 507,17; 663,21 e 598,96 mg/kgPV, observados nesse experimento com as dietas FS, FA38, FA28 e FSU, respectivamente.

Valores mais próximos aos encontrados nesse experimento foram citados por Pereira (2003), os quais encontraram efeito linear significativo dos níveis de PB dietéticos sobre a excreção de uréia, para vacas nos terços inicial e médio da lactação. Chizzotti (2004) observou variação significativa na excreção de uréia na

urina, para vacas de diferentes níveis de produção, sendo que o autor atribuiu esse efeito ao maior consumo de PB, por parte dos animais mais produtivos.

Os valores de excreção de alantoína e ácido úrico na urina e secreção de alantoína no leite, excreção de purinas totais, síntese e eficiência de síntese de proteína microbiana ruminal não foram afetados significativamente ($P>0,05$) pelas diferentes fontes de proteína dietéticas. Pereira (2003) não observou efeitos significativos dos níveis protéicos dietéticos sobre a excreção de alantoína na urina de vacas no terço inicial da lactação, sendo o valor encontrado de 303,45 mmol/dia com a dieta de 15,5 % de PB na MS, um pouco inferior à média (353,82 mmol/dia) encontrada no presente trabalho. Oliveira et al.(2001) observaram efeito quadrático significativo dos teores de NNP da dieta sobre a excreção de alantoína na urina, sendo o valor máximo de 297,09 mmol/dia observado para o nível de 4,75% de NNP na MS da dieta.

Valores mais altos de excreção urinária de alantoína (369 a 535 mmol/dia) foram relatados por Valadares et al. (1999), trabalhando com vacas de alta produção (40 ± 7 litros de leite/dia). Também, Chizzotti (2004) relatou diferenças significativas nas excreções urinárias de alantoína para animais mais produtivos (32,60 litros de leite por dia) em relação aos animais menos produtivos (18,54 e 5,88 L/dia). As excreções urinárias de ácido úrico no presente experimento tiveram comportamento semelhante ao obtido para as excreções de alantoína, não sendo influenciadas ($P>0,05$) pelas diferentes fontes de proteína dietéticas.

A secreção de alantoína láctea não foi afetada ($P>0,05$) pelas diferentes fontes protéicas, observando-se valores de 3,23; 2,78; 2,64 e 3,09 para as dietas contendo FS, FA38, FA28 e FSU, respectivamente, estando esses valores dentro da faixa (4,26 e 2,78 mmol/dia) encontrada por Gonzáles-Ronquillo et al.(2003), para animais no início e final da lactação com uma produção média de leite de 27 e 17 Kg de leite por dia, respectivamente. Chizzotti (2004) não observou diferença para as secreções de alantoína no leite (1,12;0,88 e 0,34 mmol/dia) em vacas de alta, média e baixa produção, respectivamente. Segundo Gonzáles-Ronquillo et al.(2003), na maioria dos dados citados na literatura, a excreção de derivados de purina, está positivamente correlacionada com a produção de leite, sendo esse fato explicado, devido às mudanças na síntese microbiana ruminal estarem associadas com alterações nas quantidades de proteína e energia fornecidas ao animal hospedeiro, conseqüentemente aumentando ou diminuindo o aporte de nutrientes para a

produção de leite. A correlação existente entre a produção de leite e a secreção de alantoína pela glândula mamária, pode certamente limitar o uso da alantoína ou derivados de purina lácteos, como índice para a predição do suprimento de proteína microbiana em vacas lactantes (González-Ronquillo et al., 2003). Por isso, a secreção de derivados de purinas no leite não pode ser considerada um substituto para a excreção de derivados de purina na urina, como índice para estimativa da síntese de proteína microbiana ruminal (González-Roquillo, et al. 2004).

Pereira (2003) não encontrou efeito significativo dos níveis crescentes de PB dietéticos sobre a secreção láctea de alantoína para vacas nos terços inicial e médio da lactação. Valadares et al. (1999) observaram aumento linear significativo na secreção de alantoína no leite de 18,7 para 28,6 mmol/dia, quando o concentrado aumentou a sua participação na MS da dieta de 20 para 65 % em dietas a base de silagem de alfafa. Esses autores observaram uma relação média entre a secreção de alantoína no leite e excreção total de derivados de purinas variando de 4,2 a 5,7%, semelhante às relatadas por Silva et al. (2001) de 4,5%, Oliveira et al. (2001) de 3,37 a 4,49%, e por Chen & Gomes (1992) de 5%. No presente experimento, a relação média encontrada foi de 0,75%, a qual se encontra dentro da amplitude de variação observada por Gieseck et al. (1994), variando de 0,6 a 2,4% e por Gonda & Lindenberg (1997) de 0,63 a 1,34%.

Apesar da ausência de efeito ($P > 0,05$) das diferentes fontes protéicas sobre a síntese e a eficiência de síntese de proteína microbiana ruminal, pode-se observar que houve uma diferença numérica para essas variáveis, sendo observados valores superiores com a dieta FA28 e inferiores com a dieta FA38, sendo que a dieta FSU foi a que mais se aproximou dos valores encontrados para a dieta controle, (FS). O menor valor numérico para a síntese de PB microbiana observado com a dieta contendo FA38, pode explicar a menor eficiência de utilização de nitrogênio, teor e produção de PB no leite. Segundo Santos et al. (1998), a proteína microbiana é a melhor fonte de aminoácidos disponíveis para a síntese e produção de leite e a segunda melhor fonte é o farelo de soja, o qual possui um bom perfil de aminoácidos.

A ausência de farelo de soja na dieta FA38, juntamente com o menor teor de CNF nessa dieta, proporcionado pela menor inclusão de fubá de milho (Tabela 1), podem ter sido a causa para a observação da menor produção numérica de PB microbiana com essa dieta em relação a FS. Oliveira et al. (2001) relataram efeito

quadrático significativo, para a produção observada e estimada de N-micorbiano em gN/dia, em relação a inclusão de níveis crescentes de NNP na dieta, sendo os valores de 198,05 e 196,96 gN/dia, respectivamente. Valadares et al.(1999) encontraram uma variação na produção de N-micorbiano de 278 a 419 gN/dia em função dos níveis crescentes de concentrado na dieta. Vagnoni et al. (1997) obtiveram uma variação de 308 a 362 gN-microbiano/dia. Chizzotti (2004) encontrou diferença significativa na produção de N-microbiano, conseqüentemente, na síntese de PB microbiana, comparando animais de três níveis de produção, atribuindo essa diferença ao consumo mais elevado por parte dos animais mais produtivos, que resultou em maior quantidade de substratos fermentáveis e maior taxa de passagem ruminal.

Os valores referentes às concentrações de nitrogênio uréico no leite (NUL) e no plasma (NUP), e o balanço de compostos nitrogenados, podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6- Médias diárias para as concentrações de compostos nitrogenados uréicos no plasma (NUP) e no leite (NUL), compostos nitrogenados totais no leite (NTL) e balanço de compostos nitrogenados (BN) em função das diferentes fontes dietéticas, com os respectivos coeficientes de variação (CV)

Item	Dietas				CV (%)
	FS	FA38	FA28	FSU	
NUP (mg/dL)	21,82	18,24	22,60	22,97	16,50
NUL (mg/dL)	15,26	12,45	12,65	15,13	21,71
NUL (g/dia)	3,55	2,92	2,91	3,53	25,03
NTL (g/dia)	118,63	109,99*	108,68*	114,77	6,38
BN (g/dia)	30,75	60,72*	5,09*	27,63	47,30

^{1/} Médias na linha seguidas por (*) diferem do tratamento controle (FS) pelo teste de Dunnett (P<0,05); CV = coeficiente de variação. FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais uréia.

Os valores de NUL e NUP não foram afetados (P>0,05) pelas diferentes fontes protéicas dietéticas. Também podem-se observar valores mais altos para a concentração de NUP em relação ao NUL. Valores de NUP e NUL também foram relatados por Davidson et al. (2003), os quais observaram médias variando de 15,6 a 10,7 e de 21,9 a 14,3 mg/dL, respectivamente, para animais alimentados com

diferentes níveis de PB (19,4 e 16,8) e diferentes níveis de PNDR (34,0; 40,0 e 46,0). Alguns trabalhos citam valores de NUL maiores que os valores de NUP como por exemplo Pereira (2003), Imaizumi et al. (2002), Oliveira et al. (2001), Silva et al., (2001).

Essas diferenças nas concentrações de NUP e NUL podem ser explicadas por ser o NUL uma medida que reflete o conteúdo médio de uréia no período matutino e vespertino, enquanto a concentração de NUP afere o conteúdo de uréia no plasma, somente no momento em que a amostra foi coletada. Segundo Gustafsson & Palmquist (1993), o NUP e a concentração de N-NH₃ no rúmen variam em função do consumo de alimentos, sendo que os picos diários de concentração de NUP ocorrem aproximadamente uma a duas horas após o pico de N-NH₃ no rúmen ou duas a quatro horas após a alimentação.

A maior concentração de N-NH₃ ruminal com a dieta FSU, ocorreu quatro horas após a alimentação. Este atraso em relação à dieta controle, (FS) pode possivelmente explicar os valores próximos de NUP (21,72 e 22,97 mg/dL) encontrados para as dietas FS e FSU, respectivamente, já que os picos diários de concentração de NUP ocorrem aproximadamente uma a duas horas após o pico de N-NH₃ no rúmen (Gustafsson & Palmquist, 1993), sendo que as maiores concentrações de N-NH₃ ruminal com as dietas FS, FA38, FA28 ocorreram aproximadamente duas horas após a alimentação (Figura 1).

Grings et al.(1991) observaram efeito linear significativo nos níveis de NUP (10,6 a 21,7 mg/dL) quando os níveis de PB da dieta variaram de 13,8 a 23,9 % de PB, pela inclusão do farelo de algodão em substituição à cevada e ao milho. O mesmo efeito foi relatado por Pereira (2003), que observou variações de 10,66 a 20,50 mg/dL para os níveis de NUP e de 11,12 a 20,56 mg/dL para o NUL em função dos diferentes teores protéicos (12,7; 14,1; 15,5 e 16,9 % de PB na MS) da dieta. Oliveira et al. (2001) e Silva et al. (2001) não observaram efeito nas concentrações de NUL ou NUP, para vacas alimentadas com níveis crescentes de NNP na dieta.

Quando se comparou as dietas contendo FA38 e FA28 com a dieta controle (FS), não foram observados efeitos das diferentes fontes protéicas dietéticas sobre as concentrações de NUP e NUL. Esses resultados não estão de acordo com os obtidos por Imaizumi et al. (2002), que observaram efeitos linear e quadrático significativos para a concentração de NUL e quadrático para a concentração de NUP

para vacas alimentadas com diferentes níveis (0, 50 e 100 %) de farelo de algodão em substituição ao farelo de soja. No entanto, concorda com as observações de Mena et al. (2004), os quais não encontraram efeito ($P>0,05$) nos níveis de NUL (12,33 e 13,08 mg/dL) em dietas à base de farelo de algodão e farelo de soja, respectivamente. Também Blackwelder et al. (1998) não relataram diferença significativa nos níveis de NUP (17,5 e 17,1 mg/dL) de vacas alimentadas com dietas à base de farelo de soja e de algodão.

Segundo Butler et al. (1995), a variação horária de NUL segue o mesmo padrão de nitrogênio uréico no soro (NUS), podendo ser um parâmetro útil para avaliar a utilização da proteína em relação a sua ingestão. Os mesmos autores, avaliando amostras obtidas a partir de 19 rebanhos de alta produção de leite, obtiveram valor médio de NUL de 17,7 mg/dL (variando de 14,4 a 20,2 mg/dL). Hutjens & Barmore (1995), citados por Broderick (1995), sugeriram que uma variação de NUL de 12 a 17 mg/dL indicaria um ótimo balanceamento de proteína degradada e energia fermentada no rúmen. Também valores de 10 a 16 mg/dL, dependendo da produção de leite, foram sugeridos por Jonker et al. (1999), que recomendaram a utilização de NUL para avaliar a excreção de nitrogênio em vacas de leite. Oliveira et al. (2001) encontraram como valores ótimos para a produção de N-microbiano o teor de 4,4 % de NNP na dieta, sendo que nessa dieta seria obtido 20 mg/dL de NUP, o qual foi sugerido por esses autores como o limite a partir do qual estaria ocorrendo perda de N dietético. Pereira (2003) citou que para vacas nos terços inicial e médio da lactação, consumindo dietas com 15,5 e 12,3% de PB na MS total, respectivamente, as concentrações de NUP de 17,4 (inicial) e 10,3 (médio) mg/dL seriam as concentrações limites de uréia plasmática, que poderiam ser consideradas como índices de condição nutricional com menores perdas ou utilização eficiente dos compostos nitrogenados dietéticos, para a produção de leite.

Os valores de NUL (15,26; 12,45; 12,65 e 15,13 mg/dL) observados para todas as dietas desse experimento, encontram-se dentro da faixa (10 a 17 mg/dL) determinada pela maioria dos pesquisadores, como a que resulta em melhor eficiência de utilização do nitrogênio dietético.

O balanço de compostos nitrogenados não diferiu ($P>0,05$) com a dieta FSU em relação à controle (FS), mas diferiu ($P<0,05$) com as dietas FA38 e FA28, sendo observada maior retenção de nitrogênio dietético com a dieta contendo FA38 e a menor com a dieta com FA28. Esses dados concordam com a maior excreção de

nitrogênio uréico na urina (mg/kgPV) para a dieta FA 28 (663,21* e 577,85) e a menor excreção numérica para a dieta contendo FA38 (507,17 e 577,85) em relação ao controle (FS) (Tabela 5).

Os dados de pH e concentração de N-NH₃ ruminal, com os seus respectivos erros-padrão da média, estão apresentados na Tabela 7 e na Figura 1. Uma generalização comum é que o pH abaixo de 6 inibe a degradação da celulose. Sob condições normais, os microrganismos celulolíticos crescem bem em pH igual a 6,7, sendo que desvios substanciais para elevar ou diminuir esse valor são inibitórios. Uma variação de pH em que a atividade poderia manter-se próxima do normal seria de 0,5 unidades. Valores de pH inferiores a 6,2 inibem a taxa de digestão e aumentam o *lag time* para a degradação da parede celular (Van Soest, 1994). Observa-se que os valores de pH ruminal obtidos nesse experimento situaram-se na faixa de 5,93 a 6,47, próximos dos valores sugeridos por Van Soest (1994) e por Hoover (1986), o qual cita que a digestão ruminal da fibra sofre redução em valores de pH abaixo de 6, sendo a faixa de 6,2 a 7,0 ideal para a digestão da fibra.

Pereira (2003), trabalhando com vacas no terço inicial da lactação, alimentadas com dietas à base de farelo de soja, fubá de milho e silagem de milho, com 15,5% de PB na MS da dieta total, observou valores de pH (6,48; 6,10; 6,05 e 5,88) próximos aos relatados nesse experimento, nos intervalos de amostragem de 0, 2, 4 e 6 horas após a alimentação, respectivamente. Quatro horas após alimentação Chizzotti (2004) observou valores de pH de 6,24; 6,54 e 6,78 para vacas de alta, média e baixa produção de leite, respectivamente. Situando-se esses valores bem próximos aos relatados na presente pesquisa.

As maiores concentrações de N-NH₃ foram observadas duas horas após a alimentação com as dietas FS, FA38, FA28, sendo que com a dieta FSU, essa ocorreu quatro horas após, conforme pode ser visualizado na Figura 1. A concentração de amônia no rúmen é uma função das suas taxas relativas de entrada e remoção (Nolan, 1993). Nesse experimento, as concentrações de N-NH₃ variaram de 6,27 a 25,75 mg/dL nos intervalos de 0 e 4 horas após a alimentação, respectivamente. Estes valores situaram na faixa proposta por Mehrez et al. (1977), os quais afirmaram que a máxima da atividade fermentativa ruminal é obtida quando o N amoniacal alcança valores entre 19 e 23 mg N/100 ml de líquido ruminal, enquanto Satter & Slyter (1974) estabeleceram que 5 mg N/100 ml de fluido ruminal, seria suficiente para promover taxas máximas de crescimento microbiano *in vitro*.

Tabela 7- Média e erro-padrão da média para as variáveis pH e concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃) em função das diferentes dietas e dos tempos após a alimentação

Tempo (h)	Dietas			
	FS	FA38	FA28	FSU
pH ruminal				
0	6,43±0,15	6,47±0,09	6,43±0,13	6,47±0,17
2	6,00±0,15	6,10±0,10	6,23±0,13	6,30±0,10
4	5,93±0,19	5,93±0,12	6,13±0,09	6,20±0,00
N-NH ₃ (mg/dL)				
0	6,95±0,48	6,27±0,90	7,70±1,55	6,54±0,94
2	23,73±3,52	20,65±5,94	21,64±4,82	19,04±5,07
4	13,97±2,32	13,39±3,09	16,44±6,37	25,75±9,60

FS = farelo de soja; FA38 = farelo de algodão com 38% de PB; FA28 = farelo de algodão com 28% de PB e FSU = FS mais urêa.

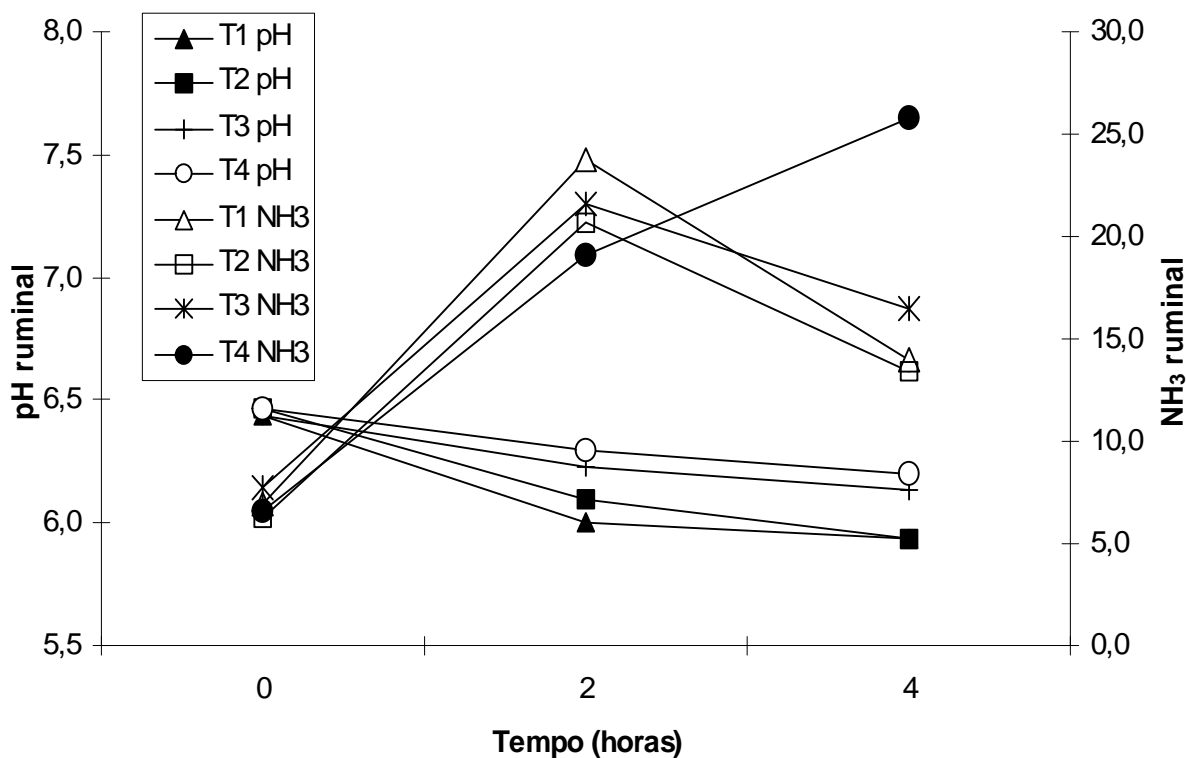


Figura 1- Níveis de NH₃ e pH ruminal nos diferentes tempos de amostragem e para cada um dos tratamentos T1 (FS), T2 (FA38), T3 (FA28) e T4 (FSU)

Conclusões

Sugere-se que dois dias de coleta de fezes podem ser utilizados para estimar a digestibilidade dos nutrientes e conseqüentemente o consumo de nutrientes digestíveis totais e que o FDNi foi o indicador mais preciso para estimar a excreção de matéria seca fecal.

As concentrações de compostos nitrogenados não protéicos no plasma e no leite e a eficiência de síntese de PB microbiana, não foram influenciadas pelas diferentes fontes de proteína dietéticas.

Referências Bibliográficas

- AROEIRA, L.J.M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. p. 127-163.
- BERCHIELLI, T.T.; RODRIGUEZ, N.M.; OSÓRIO NETO, E. et al. Comparação de marcadores de fase sólida para medir fluxo de matéria seca e matéria orgânica no duodeno. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, n.2, p.147-152, 1998.
- BERCHIELLI, T.T., ANDRADE, P., FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.830-833, 2000.
- BLACKWELDER J. T., HOPKINS, B. A., DIAZ, D. E. et al. Milk production and plasma gossypol of cows fed cottonseed and oilseed meals with or without rumen-undegradable protein. **Journal of Dairy Science**. v.81, n.11, p.2934-2941, 1998.
- BRODERICK, G. A. Effects of varying dietary protein and energy levelson the production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.86, p.1370–1381, 2003.
- BRODERICK, G.A., CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.2964-2971, 1997.
- BRODERICK, G.A. Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow. USDA, Agricultural Research Service. US Dairy Forage Research Center, 1995. **Research Summaries**, 122 p.
- BUTLER, W.R.; CHERNEY, D.J.R.; ELROD, C.C. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: CORNELL PROCEEDINGS CONFERENCE, 1., 1995. Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1995. p.89 – 95.
- 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. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p. 1992
- 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**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 142p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- DAVIDSON, S.; HOPKINS, B.A.; DIAZ, D.E. et al. Effects of amounts and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation hostein cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.5, p.1681-1689, 2003.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R. N. Produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca e matéria orgânica estimados por meio de indicadores. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.31, n.3, p.1521-1530, 2002 (suplemento).
- FUJIHARA, T., ORSKOV, E.R., REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Jornal of Agricultural Science**. v.109, p. 7-12, 1987.

- GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.8, p.2376–2381, 1994.
- GONDA, H.L.; LINDBERG, J.E. Effect of diet on milk allantoin and its relationship with urinary allantoin in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.364-373, 1997.
- GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; BELENGUER, A. et al. A Comparison of purine derivatives excretion with conventional methods as indices of microbial yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.7, p.2211-2221, 2004.
- GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- GRINGS, E.E.; ROFFLER, R.E.; DEITELHOFF, D.P. Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfalfa-based diets. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2580-2587, 1991.
- GUSTAFSSON, A .H. ; PALMQUIST, D.L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.2, p.475-484, 1993.
- HOF, G.; VERVOORN, M.D.; LENAERS, P. J. et al. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. . **Journal of Dairy Science**, v.80, n.12, p.3333-3340, 1997.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.
- IMAIZUMI, H.; SANTOS, F. A. P.; VOLTOLINI, T. V. et al., Utilização de farelo de algodão como substituto do farelo de soja em dietas para vacas holandesas em lactação. 39^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Recife 2002. **Anais...** Recife: SBZ, 2002.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to national research council recommendations. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1261-1273, 1999.
- MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, v.38, n.3, p.437-443, 1977.
- MENA, H.; SANTOS, J. E. P.; HUBER, J. T. et al. The effects of varying gossypol intake from whole cottonseed and cottonseed meal on lactation and blood parameters in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n.8, p.2506-2518, 2004.
- MOSCARDINI, S., WRIGHT, T.C., LUIMES, P.H. et al. 1998. Effects of rumen undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n.9, p.2421-2429.
- NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.47, p.227-246, 1993.
- NOUSIAINEN, J.; SHINGFIEL, K. J.; HUHTANEN, P. et al. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. . **Journal of Dairy Science**, v.87, n.2, p.386-398, 2004.

- OLIVEIRA, A.S., VALADARES, R.F.D., VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas da excreção 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, n.5, p. 1621-1629, 2001 b.
- PEREIRA, M. L. A. **Proteína nas dietas de vacas nos terços inicial e médio da lactação**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- SANTOS, F. A. P.; SANTOS, J. E. P.; THEURER, C.B. et al. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12 year literature review. . **Journal of Dairy Science** . v. 81, p. 3182-3213, 1998.
- SATTER, L. D. ; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **The British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-209, 1974.
- SCHEPERS, A. J. ; MEIJER, R. G. M. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on milk concentration in milk. **Journal of Dairy Science** . v. 81, n.2, p. 579-584, 1998.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.
- 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.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VALADARES, R.F.D., BRODERICK, G.A., VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**. v. 82, p. 2686-2696, 1999.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

Resumo e Conclusões

Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa entre puras e mestiças, distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4, organizados de acordo com dias em lactação, com o objetivo de avaliar o efeito de dois períodos de coleta de fezes (2 ou 6 dias), de dois indicadores (FDNi e FDAi) e de diferentes fontes protéicas sobre os consumos e as digestibilidades dos nutrientes, a produção e composição do leite, a eficiência de síntese de proteína microbiana, calculada a partir da excreção urinária de derivados de purina, a concentração de nitrogênio uréico no plasma e no leite, o balanço de compostos nitrogenados e a concentração de nitrogênio amoniacal e o pH ruminal. As dietas foram constituídas de 60% de silagem de milho na base da MS total, mais os concentrado, os quais, foram constituídos de diferentes fontes protéicas (FS - farelo de soja; FA38 – farelo de algodão 38%PB; FA28 - farelo de algodão 28%PB e FSU – farelo de soja mais 5% de uréia/sulfato de amônio na MS do concentrado). Os quatro períodos experimentais tiveram duração de 18 dias cada, sendo os últimos sete destinados a coletas de amostras. No 15^o dia do período de coleta, foi coletada uma amostra de leite por animal em cada uma das ordenhas, para posteriormente originar uma amostra composta. As comparações foram sempre feitas em relação à dieta controle, (FS). Os consumos de matéria seca (MS) e de matéria orgânica (MO) não diferiram entre as dietas ($P > 0,05$), mas o de proteína bruta (PB) foi maior para a dieta contendo FA38, os de proteína degradada no rúmen (PDR) foram maiores para as dietas FA28 e FSU, os de proteína não degradada no rúmen (PNDR) foram menores para as dietas FA28 e FSU e maior para a dieta com FA28, os de extrato etéreo (EE) foram maiores para as dietas FA38 e FSU e menor para a FA28, os de carboidratos não fibrosos (CNF) foram menores para as dietas FA38 e FSU, os de fibra em detergente neutro (FDN) foram maiores para as dietas FA38 e FA28 e o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram menores ($P < 0,05$) para as ambas as dietas em relação à dieta controle, (FS). Os coeficientes de digestibilidade (CD) da MS, MO, e FDN foram menores ($P < 0,05$) para as dietas com FA38, FA28 e FSU. Os CD da PB e do EE foram menores e maiores ($P < 0,05$), respectivamente, para as dietas contendo FA38, FA28 e o CD do CNF foi menor ($P < 0,05$) para a dieta FSU. A produção de leite (PL) corrigida (PLG) ou não para 3,5% de gordura, o teor e a produção de gordura do leite não foram

influenciados ($P < 0,05$) pelas diferentes fontes protéicas, mas a eficiência de utilização da MS e do nitrogênio dietético para a produção de leite, o teor e a produção de proteína do leite foram inferiores ($P < 0,05$), para as dietas contendo farelo de algodão em relação à dieta com FS. Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as dietas para volume urinário (V), as concentrações de alantoína (ALA) e de ácido úrico na urina (ACU), a concentração de alantoína no leite (ALL), a excreção total de derivados de purinas (PT), a síntese de N-microbiano (NMIC) e conseqüentemente de proteína bruta (PB) microbiana (PBMIC) e a eficiência de síntese de PB microbiana expressa em g de PB/Kg de NDT consumido. As concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) e no leite (NUL) também não diferiram ($P > 0,05$) entre as dietas. O balanço de compostos nitrogenados não diferiu ($P > 0,05$) para a dieta FSU em relação à FS, mas observaram-se maiores e menores retenções de nitrogênio ($P < 0,05$) para as dietas constituídas à base de farelo de algodão FA38 e FA28, respectivamente. Conclui-se que dois dias de coleta de fezes foram suficientes para estimar a digestibilidade dos nutrientes e o consumo de NDT e que o FDNi foi o indicador mais preciso nesse experimento, não diferindo biologicamente do FDAi. Vacas com uma produção média de 25 kg de leite/dia podem ser alimentadas com dietas contendo 5% de uréia/sulfato de amônio na MS do concentrado ou farelo de algodão com 38% PB, quando o volumoso for silagem de milho na base de 60% da MS da dieta total.