



Balanço de nitrogênio em fêmeas leiteiras em confinamento alimentadas com concentrado à base de farelo de soja ou farelo de algodão

Stefanie Alvarenga Santos¹, José Maurício de Souza Campos², Sebastião de Campos Valadares Filho², André Soares de Oliveira³, Shirley Motta de Souza³, Alberto Magno Ferreira Santiago³

¹ Programa de Pós-graduação em Zootecnia – UFV. Bolsista da FAPEMIG.

² DZO/UFV – Bolsista do CNPq.

³ Programa de Pós-graduação em Zootecnia – UFV.

RESUMO - Avaliou-se a influência do fornecimento de concentrados à base de farelo de soja ou farelo de algodão em dietas com silagem de milho sobre o balanço de nitrogênio e a produção de proteína microbiana em fêmeas leiteiras em crescimento. As dietas foram constituídas da combinação de dois níveis de concentrado (1 ou 2 kg) e duas fontes proteicas (farelo de soja ou farelo de algodão). Os animais que consumiram concentrado na quantidade de 2 kg/dia apresentaram maior consumo de nitrogênio total, entretanto não houve efeito significativo sobre o N-fecal, N-urinário e o balanço de nitrogênio. A interação entre o nível de concentrado e a fonte proteica influenciou o nitrogênio ureico na urina (N-urina), mas não alterou os níveis de nitrogênio ureico no plasma. Os níveis de concentrado e as fontes proteicas não afetaram as concentrações de purinas totais e alantóina na urina, a porcentagem de alantóina em relação às purinas totais, os níveis de ácido úrico na urina e nitrogênio microbiano nem a eficiência microbiana. O fornecimento de 1 ou 2 kg de concentrado contendo farelo de soja ou farelo de algodão como fontes proteicas para novilhas leiteiras em crescimento não afeta a eficiência microbiana, entretanto o fornecimento de 2 kg de concentrado aumenta a excreção de nitrogênio nas fezes.

Palavras-chave: balanço de nitrogênio, derivados de purina, novilhas leiteiras, proteína microbiana

Nitrogen use efficiency of growing dairy heifers fed concentrate rations based on soybean or cottonseed meal

ABSTRACT - The objective of this work was to evaluate effect of based-soybean or cottonseed meal concentrate rations in diets with corn silage on nitrogen balance (NB) and microbial protein production in growing dairy females. diets consisted of the combination of two levels of concentrate ration, 1 or 2 kg, and two protein sources, soybean meal or cottonseed meal. The animals that consumed 2 kg of concentrate ration showed greater total nitrogen intake, however, there was no significant effect on fecal-N, urine-N and nitrogen balance. The interaction among the concentrate levels and the protein source affected the urine uric N (N-urine) but did not change the levels of ureic nitrogen in the plasma. Levels of concentrate and protein sources did not affect concentrations of total purine and allantoin in the urine, the percentage of allantoin regarded to total purine, the levels of uric acid in the urine, microbial nitrogen neither the microbial efficiency. The supply of 1 or 2 kg of concentrate ration for growing dairy heifers, using soybean meal or cottonseed meal as protein sources does not affect microbial efficiency, although the supply of 2 kg of concentrate ration causes N waste in feces.

Key Words: dairy heifers, microbial protein, nitrogen balance, purine derivatives

Introdução

Considerando a importância da síntese microbiana para o metabolismo proteico dos ruminantes, é importante conhecer a eficiência na produção de proteína microbiana, fonte de aminoácidos de alta qualidade disponível para absorção e que possui digestibilidade intestinal aproximadamente de 85% e perfil de aminoácidos constante

(Schwab, 1996). O NRC (2001) preconiza um valor de 130 g de proteína microbiana por kg de NDT, quando as dietas possuem mais de 40% de volumoso, para máxima eficiência. De modo geral, 50 a 70% do nitrogênio microbiano pode ser derivado da amônia ruminal e o restante de peptídeos e aminoácidos da dieta (Nolan & Leng, 1972).

Fêmeas leiteiras para reposição possuem exigências específicas de proteína dietética para suportar o

crescimento, porém, o consumo excessivo de proteína bruta (PB) aumenta a excreção de nitrogênio fecal e urinário (Hoffman et al., 2001). O NRC (2001) preconiza exigência líquida de proteína de 156 g/dia para fêmeas em crescimento pesando em torno de 225 kg e ganhando aproximadamente 0,800 kg/dia, ou seja, em torno de 25 g/dia de N, entretanto, o aproveitamento desse nitrogênio está condicionado à disponibilidade de energia. As disponibilidades ruminais de energia e nitrogênio são os fatores nutricionais que limitam o crescimento microbiano, e a alteração da relação volumoso:concentrado na dieta pode influir na taxa de crescimento, em razão da variação na disponibilidade de energia (Rennó et al., 2000).

A relação volumoso:concentrado parece ser também importante no crescimento de fêmeas leiteiras, pois, a partir desta, pode-se manipular a relação proteína:energia da dieta. O NRC (2001) preconiza valor de 50 g de PB por Mcal de energia metabolizável para novilhas de 6 a 12 meses para que haja desenvolvimento ideal da glândula mamária no período pré-púbere, sem acúmulo de tecido adiposo no lugar do tecido parenquimal. O uso de ingredientes de elevada concentração proteica permite ajustar a relação volumoso:concentrado para aproveitamento do teor de proteína em relação à energia da dieta, com menor proporção de energia oriunda do concentrado.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o balanço de compostos nitrogenados e a produção de proteína microbiana a partir do uso de rações concentradas à base de farelo de soja ou farelo de algodão em dietas contendo silagem de milho para fêmeas leiteiras em crescimento.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Animais do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa entre março e junho de 2006. Foram utilizadas 28 novilhas mestiças Holandês-Zebu, com aproximadamente 10 meses de idade e 180 kg, distribuídas em delineamento de blocos casualizados, com sete repetições, considerando cada animal uma unidade experimental, e os blocos formados de acordo com o peso inicial dos animais.

Quatro dietas experimentais foram constituídas da combinação de dois níveis de concentrado (1 ou 2 kg) e duas fontes proteicas (farelo de soja ou farelo de algodão), em esquema fatorial 2×2 . Nos concentrados formulados para fornecimento de 2 kg, foi utilizado o farelo de trigo, a fim de que as dietas fossem isonitrogenadas (Tabela 1). O volumoso, silagem de milho, foi oferecido à vontade em quantidade suficiente para que as sobras correspondessem a 10% do fornecido.

O experimento foi composto de 14 dias de adaptação às dietas e três períodos experimentais de 28 dias, perfazendo um total de 84 dias de experimento para a coleta de dados e avaliação do desenvolvimento dos animais. As dietas foram oferecidas duas vezes ao dia, metade por volta das 7h30 e metade por volta das 15h30, na forma de mistura completa. As novilhas foram alojadas em baias individuais 3×5 m, com solários, comedouros e bebedouros individuais.

Amostras de sangue foram coletadas no 15º dia do 2º período experimental, por meio de punção da veia jugular, utilizando-se tubos de ensaio com anticoagulante (EDTA) 4 horas após alimentação da manhã. Imediatamente após a coleta, os tubos foram centrifugados a 5.000 rpm por 15 minutos e, então, amostras de plasma foram retiradas e acondicionadas em recipientes de vidro, que foram congelados a -15°C , para posterior análise da concentração de nitrogênio ureico, utilizando-se *kit* color comercial (Bio Systems Reagents & Instruments) e as leituras, em espectrofotômetro com filtro de 600 nm.

Amostras de urina foram obtidas no 16º dia do 2º período experimental, aproximadamente 4 horas após a alimentação, com indução à micção por estimulação das vias urinárias. Da urina coletada, após homogeneização e filtragem, alíquotas de 10 mL foram obtidas e diluídas em 40 mL de ácido sulfúrico 0,036 N, conforme descrito por Valadares et al. (1997). Estas amostras tiveram seu pH ajustado para abaixo de 3,0, a fim de evitar destruição bacteriana dos derivados de purina, e foram acondicionadas em recipientes plásticos devidamente identificados e congeladas (-20°C) para posteriores análises de ureia, nitrogênio total, creatinina, ácido úrico e alantoína.

O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pela concentração de creatinina na urina, segundo Valadares Filho & Valadares (2001). A excreção urinária diária de creatinina (EC) foi estimada a partir da equação $EC \text{ (g/dia)} = 32,27 - 0,01093 * PV \text{ (kg)}$, proposta para estimar a excreção diária de creatinina em novilhas, que ocorre em função do peso vivo (Chizzotti et al., 2006).

O balanço de compostos nitrogenados (BN) foi obtido pela diferença entre o total de nitrogênio ingerido (N-total) e o total de nitrogênio excretado nas fezes (N-fezes) e na urina (N-urina). A determinação do nitrogênio total nas fezes e na urina foi feita segundo metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002).

As análises de alantoína na urina foram realizadas pelo método colorimétrico, segundo Fujihara et al. (1987), descrito por Chen & Gomes (1992). As determinações de creatinina, ácido úrico e ureia foram realizadas por meio de *kits* comerciais (Labtest).

A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoina e ácido úrico excretados na urina, expressas em mmol/dia.

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

$$Y = \frac{X - 0,385 PV^{0,75}}{0,85}$$

em que: 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas e 0,385 PV^{0,75}, a contribuição endógena para excreção de purinas (Verbic et al., 1990).

A síntese de compostos nitrogenados microbianos no rúmen (Y, g N/dia) foi calculada em relação às purinas absorvidas (X, mmol/dia), por meio da equação:

$$Y = (70X) / (0,83 \times 0,116 \times 1000)$$

em que: 70 representa o conteúdo de nitrogênio nas purinas (mg N/mmol); 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116, a relação N-purina : N total nas bactérias (Chen & Gomes, 1992).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando significativos no teste F, foram comparados pelo teste Tukey a 5% utilizando-se o programa SAEG, versão 7.1 (UFV, 1997).

Tabela 1 - Composição dos concentrados e das dietas (%MS)

Item	Concentrado			
	Farelo de soja		Farelo de algodão	
	1 kg	2 kg	1 kg	2 kg
Ingrediente				
Farelo de soja	93,14	28,57	0,00	0,00
Farelo de algodão (38% PB)	0,00	0,00	90,29	28,57
Farelo de trigo	0,00	67,60	0,00	66,83
Ureia/sulfato amônio (9:1)	2,23	1,51	5,09	2,29
Mistura mineral	4,63	2,31	4,63	2,31
			Dieta	
Silagem de milho	82,5	65,0	82,5	65,0
Farelo de soja	16,3	10,0	0,00	0,00
Farelo de algodão (38% PB)	0,00	0,00	15,8	10,0
Farelo de trigo	0,00	23,66	0,0	23,39
Ureia/sulfato amônio (9:1)	0,39	0,53	0,89	0,80
Mistura mineral ¹	0,81	0,81	0,81	0,81
Composição nutricional				
Matéria seca	34,69	42,34	35,13	42,54
Matéria orgânica	94,03	92,74	93,38	92,56
Proteína bruta	13,64	13,57	13,98	13,81
Nitrogênio não-proteico (NNP)	50,47	47,72	50,46	48,10
NIDN (%NNP)	26,27	26,31	26,11	26,32
NIDA (%NNP)	8,91	8,11	8,84	8,16
Extrato etéreo	2,84	3,02	2,91	3,07
Carboidratos totais	78,18	77,01	77,94	72,98
Carboidratos não-fibrosos	28,47	27,29	25,81	24,75
Fibra em detergente neutro (FDN)	49,71	49,72	52,13	52,23
FDNcp	44,06	43,96	46,38	46,42
FDNi	16,03	15,41	17,72	16,87
Fibra em detergente ácido	26,70	25,97	28,05	26,69
Fibra em detergente ácido indigestível	12,47	11,98	14,01	12,80
Lignina	4,75	4,81	5,58	5,37

NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDNi = fibra em detergente neutro insolúvel.

Resultados e Discussão

Houve interação fonte proteica × quantidade fornecida sobre o N-ingerido (P<0,05), uma vez que os animais que consumiram 2 kg de concentrado apresentaram maior excreção de N-fecal (P<0,05), entretanto não houve efeito significativo sobre o N-urinário e o balanço de nitrogênio

(Tabela 2). O consumo de nitrogênio parece estar associado ao de matéria seca, uma vez que os animais que consumiram 1 kg de concentrado à base de farelo de algodão apresentaram menor consumo (Tabela 3). A excreção de N-fecal, no entanto, foi maior nos animais que receberam 2 kg de concentrado, o que também está associado ao maior consumo.

Tabela 2 - Consumo de matéria seca e balanço de compostos nitrogenados em fêmeas leiteiras em crescimento

Item	Fonte proteica				%CV	Efeito		
	Farelo de soja		Farelo de algodão			Fonte proteica (FP)	Quantidade (Q)	FP × Q
	1 kg	2 kg	1 kg	2 kg				
Consumo de MS	5,90	6,20	5,57	6,46	7,2	ns	*	*
N-ingerido (g/dia)	120,5	125,2	115,0	127,5	5,4	ns	*	*
N-fecal (g/dia)	24,2	32,4	27,7	37,9	16,2	ns	*	ns
N-urina (g/dia)	67,2	58,3	57,2	65,0	31,9	ns	ns	ns
Balanço de nitrogênio (g/dia)	29,2	34,3	29,8	31,0	59,8	ns	ns	ns
Balanço de nitrogênio (% do N ingerido)	24,2	27,6	25,9	24,3	59,2	ns	ns	ns

ns: não-significativo; * (P<0,05) pelo teste Tukey.

Tabela 3 - Médias de consumo de matéria seca e nitrogênio ingerido em fêmeas leiteiras em crescimento alimentadas com concentrado formulado com duas fontes proteicas

Fonte proteica	Quantidade			
	Consumo de MS (kg/dia)		N-ingerido (g/dia)	
	1 kg	2 kg	1 kg	2 kg
Farelo de soja	5,90Aa	6,20Aa	120,5Aa	125,2Aa
Farelo de algodão	5,57Bb	6,46Aa	115,0Ba	127,5Aa

Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula/minúscula não diferem na linha/coluna pelo teste Tukey a 5%.

Mesmo assim, a excreção de N-urina e o balanço de nitrogênio mantiveram-se constantes (Tabela 2), o que pode indicar que houve excesso de nitrogênio consumido pelos animais que receberam 2 kg de concentrado e que este excesso foi eliminado pelas fezes.

Segundo Wilkerson et al. (1993) e Hoffman et al. (2001), existe uma relação linear entre consumo de nitrogênio e excreção de nitrogênio nas fezes e na urina, entretanto é possível que o *pool* de amônia ruminal nos animais que consumiram 2 kg de concentrado tenha sido aproveitado satisfatoriamente, e a reciclagem de ureia pelo fígado parece ter sido efetiva, o que propiciou excreção constante de nitrogênio na urina e excreção do nitrogênio em excesso pelas fezes.

Marini & Van Amburgh (2005) conduziram experimento com novilhas leiteiras em crescimento com 250 kg de peso médio para testar níveis de consumo de nitrogênio dietético e, ao contrário deste experimento, notaram aumento linear na excreção de nitrogênio urinário com o aumento no nitrogênio dietético (20 a 120 g/dia) e não encontraram diferenças significativas na excreção de N fecal (média de 49 g/dia). Valor inferior ao obtido com as dietas deste experimento foi relatado por Valadares et al. (1997), que, em pesquisa com zebuínos, forneceram dietas com maiores concentrações de PB e verificaram aumentos na excreção de N-urina, cujo valor médio foi de 33,88 g/dia para os animais

recebendo dietas com cerca de 12% de PB. O NRC (2001) preconiza exigência líquida de proteína para fêmeas em crescimento pesando em torno de 225 kg e ganhando aproximadamente 800 g/dia de 156 g/dia de proteína, ou seja, em torno de 25 g/dia de N. Os valores de nitrogênio retido neste trabalho foram mais elevados, o que comprova que foram atendidas as exigências de PB dos animais.

Houve efeito da interação fonte proteica × quantidade de concentrado sobre o NU-urina em g/dia e mg/kg PV (P<0,05), uma vez que os animais que receberam 2 kg de concentrado à base de farelo de soja apresentaram a menor excreção de nitrogênio ureico na urina (Tabelas 4 e 5). Como não houve diferença significativa para excreção de N-urina (g/dia), é possível que essa redução tenha sido ocasionada pela menor quantidade de ureia produzida no metabolismo proteico desses animais. Segundo Obara et al. (1991), a amônia absorvida pelo trato digestivo é convertida a ureia pelo fígado e excretada na urina ou transferida para o intestino e degradada por microrganismos. Para determinada dieta, a quantidade de ureia que é reciclada para o rúmen pela saliva ou da parede ruminal é diretamente relacionada ao consumo de nitrogênio e à degradabilidade do nitrogênio dietético. Assim, o maior consumo de PB dos animais que consumiram 2 kg de concentrado, com a mesma retenção de nitrogênio, aliado à maior degradabilidade do farelo de soja em relação ao farelo de algodão, parece ter resultado em menores quantidades de nitrogênio na urina, provavelmente em razão das quantidades satisfatórias de amônia ruminal, sem excessos, com pouca necessidade de reciclagem.

Rennó et al. (2000), em pesquisa com novilhos de raças de corte, não observaram diferenças nas excreções de nitrogênio na urina entre os tipos de concentrado e encontraram média de 86,14 mg/kg de PV, valor inferior aos encontrados neste experimento.

Os valores de NUP não diferiram entre as dietas (Tabela 4). Segundo Broderick & Clayton (1997), a ureia é a forma primária de excreção de nitrogênio em mamíferos e sua

Tabela 4 - Nitrogênio ureico na urina e no plasma em fêmeas leiteiras em crescimento alimentadas com concentrado formulado com duas fontes proteicas

Item	Fonte proteica				%CV	Efeito		
	Farelo de soja		Farelo de algodão			Fonte proteica (FP)	Quantidade (Q)	FP × Q
	1 kg	2 kg	1 kg	2 kg				
NU-urina (g/dia)	63,2	40,4	52,3	59,3	28,9	ns	ns	*
NU-urina (mg/kg de PV)	305,7	195,4	260,7	287,3	28,0	ns	ns	*
NUP (mg/dL)	13,53	15,03	14,03	11,34	33,6	ns	ns	ns

ns: não-significativo; * (P<0,05) pelo teste Tukey.

concentração no plasma sanguíneo é bastante conhecida por refletir ineficiência na utilização da PB dietética. Os teores de NUP parecem não ter refletido variações no metabolismo proteico, assim como o nitrogênio na urina. Apesar de NUP ter elevada correlação positiva com os teores de PB da dieta (Broderick & Clayton, 1997; Jonker et al., 1998; Chizzoti et al., 2006; Hojman et al., 2004; Nousiainen et al., 2004), Van Soest (1994) relatou que a quantidade de ureia reciclada é relativamente independente do nitrogênio dietético, desde que o tamanho do *pool* de ureia na corrente sanguínea esteja abaixo do controle homeostático fisiológico, e tende a ser constante. Assim, é possível que o *pool* de ureia no plasma não tenha sido afetado pelo nitrogênio dietético.

Tabela 5 - Nitrogênio ureico na urina em fêmeas leiteiras em crescimento alimentadas com concentrado formulado com duas fontes proteicas

Fonte proteica	Quantidade			
	Nitrogênio na urina (g/dia)		Nitrogênio na urina (mg/kg de PV)	
	1 kg	2 kg	1 kg	2 kg
Farelo de soja	63,2aA	40,7aB	305,7aA	195,4bB
Farelo de algodão	52,3aA	59,3aA	260,7aA	287,3aA

Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula/minúscula não diferem na linha/coluna pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 6 - Excreção de derivados de purina, nitrogênio microbiano e eficiência microbiana em fêmeas leiteiras em crescimento alimentadas com concentrado formulado com duas fontes proteicas

Item	Fonte proteica				%CV	Efeito		
	Farelo de soja		Farelo de algodão			Fonte proteica (FP)	Quantidade (Q)	FP × Q
	1 kg	2 kg	1 kg	2 kg				
Purinas totais (mmol/dia)	137,86	130,75	140,94	135,94	33,5	ns	ns	ns
Alantoína (mmol/dia)	121,33	107,61	117,58	112,19	38,3	ns	ns	ns
Alantoína relativa ¹	86,97	80,40	81,28	81,65	10,6	ns	ns	ns
Ácido úrico (mmol/dia)	16,52	23,13	23,36	23,75	40,4	ns	ns	ns
N microbiano (g/dia)	86,45	80,84	89,16	85,38	39,19	ns	ns	ns
Eficiência microbiana ²	128,57	122,26	137,45	123,27	35,54	ns	ns	ns

¹ Porcentagem em relação às proteínas totais.

² g de proteína bruta microbiana por kg de nutrientes digestíveis totais.

ns: não-significativo; * (P<0,05) pelo teste Tukey.

Hoffman et al. (2001), em pesquisa com novilhas leiteiras, observaram aumento linear na quantidade de NUP de acordo com os níveis de PB da dieta e relataram que as dietas com 15% de PB apresentaram média de 12,4 mg/dL, enquanto neste trabalho o valor médio foi de 13,4 mg/dL. Magalhães et al. (2005), trabalhando com níveis de 0 a 2% de ureia em dietas para novilhos de origem leiteira, não encontraram diferenças significativas no teor de NUP, cuja média foi de 14,9 mg/dL.

Não houve efeito significativo das fontes proteicas nem da quantidade de concentrado fornecida sobre os teores de purinas totais na urina, alantoína na urina, porcentagem de alantoína em relação à de purinas totais, ácido úrico na urina, nitrogênio microbiano e eficiência microbiana (Tabela 6). A síntese de proteína microbiana depende, em grande parte, da disponibilidade de carboidratos e de nitrogênio no rúmen (Clark et al., 1992; NRC, 2001), de modo que o crescimento microbiano aumenta com a sincronização entre a disponibilidade da energia fermentável e o nitrogênio degradável no rúmen (Russell et al., 1992; NRC, 1996). Assim, pode-se inferir que neste experimento não houve limitação do crescimento microbiano para nenhuma das dietas. A média de energia metabolizável obtida foi de 127,88 g de PBmic por kg de NDT, valor bastante próximo do recomendado pelo NRC (2001), de 130 g PB/kg NDT.

Pina et al. (2006) trabalharam com diferentes fontes proteicas, inclusive com farelo de soja e farelo de algodão, para vacas em lactação e não encontraram diferença significativa para N-microbiano e eficiência microbiana e excreções de alantoína e ácido úrico, assim como foi verificado neste experimento. Por outro lado, Valadares et al. (1999), trabalhando com diferentes níveis de concentrado (20 a 65%) para vacas em lactação, encontraram efeito linear sobre o N-microbiano, assim como nas excreções de alantoína e ácido úrico.

Conclusões

O fornecimento de 1 ou 2 kg de concentrado formulado com farelo de soja ou farelo de algodão como fonte proteica para novilhas leiteiras em crescimento não altera a eficiência microbiana, entretanto, o fornecimento de 2 kg de concentrado promove desperdício de nitrogênio nas fezes.

Referências

- 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.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details**. International Feed Research Unit. Aberdeen: Rowett Research Institute, 1992. 21p. (Occasional publication).
- CHIZZOTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1813-1821, 2006 (supl.).
- CLARK, 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.
- HOFFMAN, P.C.; ESSER, N.M.; BAUMAN, L.M. et al. Short communication: effect of dietary protein on growth and nitrogen balance of Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.843-847, 2001.
- HOJMAN, D.; O. KROLL, G.; ADIN, M. et al. Relationships between milk urea and production, nutrition and fertility traits in Israeli dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1001-1011, 2004.
- JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAN, R.A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2681-2692, 1998.
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Produção de proteína microbiana, concentração plasmática de uréia e excreções de uréia em novilhas alimentadas com diferentes níveis de uréia ou casca de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1400-1407, 2005.
- MARINI, J.C.; VAN AMBURGH, M.E. Partition of nitrogen excretion in urine and the feces of Holstein replacement heifers. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1778-1784, 2005.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 7.ed., 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington, D.C.: National Academy Press, 7.ed., 2001. 381p.
- NOLAN, J.V.; LENG, R.A. Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep. **British Journal of Nutrition**, v.27, p.177-194, 1972.
- NOUSIAINEN, J.; SHINGFIELD, K.J.; HUHTANEN, P. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.386-398, 2004.
- OBARA, Y.; DELLOW, D.W.; NOLAN, J.V. The influence of energy-rich supplements on nitrogen kinetics in ruminants In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. (Eds.) **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. Tokyo: Academic Press, 1991. p.515-539.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1543-1551, 2006.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.
- SCHWAB, C.G. Amino acid nutrition of dairy cows: current status. In: **Proceedings Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers**. Ithaca: Cornell University, 1996. p.184-198.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 7.1. Viçosa, MG (Manual do usuário). 1997. 150p.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; SAMPAIO, I.B. et al. Níveis de proteína em dietas de bovino. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.270-1278, 1997.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa 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.; VALADARES, R.D.F. Recentes avanços em proteína na nutrição de vacas leiteiras. In: SINLEITE – SIMPÓSIO INTERNACIONAL NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO, 2., Lavras. **Anais...** Lavras, 2001. p.229-247.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 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 Agriculture Science**, v.114, p.243-248, 1990.
- WILKERSON, V.A.; KLOPFENSTEIN, T.J.; BRITTON, R.A. et al. Metabolizable protein and amino acid requirements of growing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.71, p.2777-2784, 1993.