

Balanço de Compostos Nitrogenados, Produção de Proteína Microbiana e Concentração Plasmática de Uréia em Vacas Leiteiras Alimentadas com Dietas à Base de Cana-de-Açúcar¹

Sandro de Souza Mendonça², José Maurício de Souza Campos³, Sebastião de Campos Valadares Filho³, Rilene Ferreira Diniz Valadares⁴, Carla Aparecida Soares⁵, Rogério de Paula Lana³, Augusto César de Queiroz³, Anderson Jorge de Assis⁶, Mara Lúcia Albuquerque Pereira⁷

RESUMO - Doze vacas da raça Holandesa, puras e mestiças, foram distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4, com o objetivo de avaliar o balanço de nitrogênio (N), a produção de proteína microbiana, a concentração de uréia no plasma e no leite e diferentes tempos de coleta de urina. As dietas foram constituídas à base de silagem de milho (SM) (AG 1051) com relação volumoso:concentrado (V:C) de 60:40, com base na matéria seca (MS), ou à base de cana-de-açúcar (CA) (RB 855536) com relação V:C de 60:40, com 0,35 ou 1% de uréia+sulfato de amônio (SA) ou V:C de 50:50 com 1% de uréia+SA. O balanço de N, para a dieta à base de SM, foi maior, 88 g N/dia, do que para as dietas com CA com 40% de concentrado, 67 ou 69 g N/dia. Entre as dietas contendo CA, não houve diferença no balanço de N. A excreção média diária total de derivados de purinas (DP), as purinas absorvidas (PA) e a estimativa de N microbiano, 221 g/dia, foram maiores para dieta à base de SM, quando comparada com as dietas à base de CA com 40% de concentrado, 180 ou 178 g N microbiano/dia. Entretanto, quando comparada à dieta contendo CA com 50% de concentrado, não houve diferença para as variáveis balanço de N, DP, PA e N microbiano. Não houve diferença na excreção média diária total de DP, PA e produção de N microbiano, entre as dietas contendo CA. Em relação aos tempos de coleta de urina de 24 ou 8 horas, ou seja, coleta total ou parcial, não houve diferença nas excreções médias diárias de creatinina (24 x 22 mg/kg de PV), uréia, alantóina (245 x 228 mmol/dia) e ácido úrico. A dieta contendo CA, corrigida com 1% de uréia+SA, com 50% de concentrado proporcionou produção de proteína microbiana semelhante à dieta à base de SM com relação V:C de 60:40, com base na MS. O N-uréia plasmático parece ser melhor indicador do metabolismo protéico em vacas leiteiras do que o N-uréia no leite.

Palavras-chave: ácido úrico, alantóina, creatinina, derivados de purinas

Nitrogenous Compounds Balance, Microbial Protein Production and Plasma Urea Concentration in Dairy Cows Fed Sugar Cane Based Diets

ABSTRACT - Twelve purebred and crossbred Holstein cows were allotted to three 4 x 4 Latin Squares to evaluate the nitrogen (N) balance, microbial protein production, plasma and milk urea concentration and different urine collections times. The experimental diets were based on corn silage (CS) (AG 1051) with forage:concentrate ratio (F:C) of 60:40, in dry matter (DM) basis, or in sugar cane basis (SC) (RB 855536) with F:C of 60:40 with .35 or 1% of urea+ammonium sulfate (AS) mixture or FC of 50:50 with 1% of urea+AS. Nitrogen balance (N) was higher for CS based diet, 88 g N/day, in relation to SC based diets with 40% concentrate, 67 or 69 g N/day. Among the SC diet based, difference on N balance was observed. Average total daily excretion of purine derivatives (DP), absorbed purine (AP) and estimated microbial N, 221 g/day, were higher for CS based diet, when compared to SC based diets with 40% concentrate, 180 ou 178 g microbial N/day. However, when compared to SC based diet with 50% concentrate, there was no difference for N balance, PD, AP and microbial N variables. There was no difference in the average total daily excretion of PD, AP and microbial N production among the diets containing SC. There was no difference on the daily mean urine excretion of creatinine (24 x 22 mg/ of kgLW), urea, allantoin (245 x 228 mmol/day) and uric acid relative to the urine collection of 24 or 8 hours, or else, total or partial urine collection. SC based diet, corrected for 1% of urea+AS, with 50% concentrate provided microbial protein production similar to that of CS based diet with F:C ratio of 60:40, in DM basis. N-urea plasma seems to be better indicator of the protein metabolism in dairy cows than N-urea in milk.

Key Words: allantoin, creatinine, purine derivatives, uric acid

¹ Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, apresentada à UFV. Projeto parcialmente financiado pelo CNPq.

² Professor do DTRA/UESB (sandro@uesb.br).

³ Professor do DZO/UFV (jmscampos@ufv.br; scvfilho@ufv.br).

⁴ Professora do DVT/UFV (rilene@ufv.br)

⁵ Zootecnista, Mestre em Zootecnia (Nutrição de Ruminantes) pela UFV.

⁶ Estudante de Doutorado DZO/UFV (a.j.assis@ibest.com.br)

⁷ Professora do DEBI/UESB (mara@uesb.br)

Introdução

A quantificação da síntese de proteína microbiana no rúmen é importante para a nutrição de ruminantes. Segundo Valadares filho (1995), as exigências protéicas dos ruminantes são atendidas mediante a absorção intestinal de aminoácidos provenientes, principalmente, da proteína microbiana sintetizada no rúmen e da proteína dietética não-degradada no rúmen.

A determinação da contribuição da proteína microbiana constitui uma importante área de estudo na nutrição protéica de ruminantes, sendo que a estimativa da contribuição da proteína microbiana no fluxo intestinal de proteína está incorporada aos sistemas de avaliação de proteína, já em uso em vários países (Chen & Gomes, 1992).

Os métodos para medição da quantidade de compostos nitrogenados microbianos utilizam indicadores internos, como bases purinas e ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA), e externos como ^{15}N e ^{35}S . Como estes métodos requerem a utilização de animais fistulados e a determinação do fluxo da matéria seca no abomaso, tem sido grande o interesse no desenvolvimento de técnicas não-invasivas para determinação da proteína microbiana. Rennó et al. (2000a), trabalhando com bovinos fistulados, observaram que não houve diferenças entre a produção microbiana determinada pelo método das bases purinas no abomaso e pela excreção de derivados de purinas (DP).

O uso de DP para estimar a síntese de proteína microbiana tem sido uma alternativa às técnicas invasivas. O método de excreção de DP assume que o fluxo duodenal de ácidos nucleicos é, predominantemente, de origem microbiana e, após digestão intestinal dos nucleotídeos de purinas, as bases nitrogenadas adenina e guanina são catabolizadas e excretadas, proporcionalmente, na urina como DP, principalmente alantoína, mas, também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (Perez et al., 1996). No trabalho desenvolvido por Rennó et al. (2000a), do total de derivados de purinas excretados na urina aproximadamente 98% eram representados por alantoína e ácido úrico, e apenas 2%, por xantina e hipoxantina. Tal fato ocorreu devido à grande atividade da xantina oxidase no sangue e nos tecidos, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico antes da excreção (Chen & Gomes, 1992).

A absorção de purinas está relacionada com a

excreção de DP e, sabendo-se a relação de nitrogênio (N) purina/N total na massa microbiana, a produção de N microbiano pode ser calculada a partir da quantidade de purina absorvida, que é estimada a partir da excreção urinária de DP (Chen & Gomes, 1992).

A absorção de amônia através da parede do rúmen é a principal rota para a amônia que não foi assimilada pelos microrganismos, sendo removida da circulação portal pelo fígado, onde entra no ciclo da uréia (Lobley et al., 1995).

A uréia constitui a principal forma pela qual os compostos nitrogenados são eliminados pelos mamíferos e, quando a taxa de síntese de amônia é maior que sua utilização pelos microrganismos, observa-se elevação na concentração de amônia no rúmen, com conseqüente aumento na excreção de uréia e no custo energético da produção de uréia, resultando, dessa forma, em perda de proteína (Russell et al., 1992). A concentração plasmática de uréia é, positivamente, relacionada à ingestão de compostos nitrogenados (Valadares et al., 1997a; Valadares et al., 1999). A partir desta afirmação, conclui-se ser de grande importância a determinação da concentração plasmática de uréia, para evitar perdas de proteína, já que este nutriente é responsável pela maior parte do custo na formulação de ração, além de representar custo energético para o animal.

Segundo Broderick & Clayton (1997), a concentração de uréia no leite reflete a concentração de uréia no plasma. A concentração de uréia no leite pode ser um importante indicador do metabolismo protéico em vacas (Schepers & Meijer, 1998; Jonker et al., 1998).

Para reduzir erros decorrentes de variações na produção urinária, as coletas de urina deveriam ser feitas durante, pelos menos, cinco dias (Chen & Gomes, 1992). Diferentes tempos de coleta de urina têm sido realizados, a exemplo de Siddons et al. (1985), Coto et al. (1988) e Valadares et al. (1997b), que realizaram coleta de nove dias, de três dias, e 24 horas, respectivamente.

A maioria dos experimentos tem usado animais machos em gaiolas de metabolismo. Susmel et al. (1994), Vagnoni et al. (1997) e Valadares et al. (1997b) realizaram coletas de urina, em fêmeas, utilizando catéteres, sendo que o tempo de coleta variou de cinco, de três e de um a quatro dias, respectivamente. É importante ressaltar que o uso de catéteres pode causar desconforto, principalmente para animais em lactação. Desse modo, quanto me-

nor o tempo de coleta, menores serão os problemas de desconforto ou mesmo possíveis lesões no trato urinário que acometerão os animais. Portanto, torna-se importante o desenvolvimento de metodologias que proporcionem diminuição do tempo de coleta. Isto pode ser possível a partir da estimativa do volume urinário, com base na excreção de creatinina na urina.

Segundo Harper et al. (1982), a creatinina é formada no tecido muscular pela remoção irreversível e não-enzimática de água do fosfato de creatina, originada do metabolismo de aminoácidos. Dados da literatura têm demonstrado que a excreção de creatinina é constante, em função do peso vivo dos animais. Portanto, é possível a utilização de creatinina para estimar o volume urinário, o que possibilitará estimar a excreção de DP e de outros compostos, sem necessidade de coleta total de urina.

O presente trabalho foi realizado visando avaliar o balanço de compostos nitrogenados, a produção de proteína microbiana, a concentração de uréia no leite e no plasma, e diferentes tempos de coleta de urina em vacas lactantes alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar.

Material e Métodos

O presente experimento foi conduzido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite do Departamento de Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa, durante o período de julho a outubro de 2000.

Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa Malhada de Preto, puras (sete) e mestiças (cinco), distribuídas em três quadrados latinos 4 x 4, balanceados de acordo com o número de dias em lactação. No início do experimento, os animais estavam, em média, com 57 dias de lactação. O experimento foi constituído por quatro períodos, com duração de 19 dias cada, sendo os sete primeiros dias de adaptação às dietas experimentais.

As dietas experimentais foram constituídas à base de silagem de milho (AG 1051) com relação volumoso:concentrado de 60:40, com base na matéria seca, ou à base de cana-de-açúcar (variedade RB 855536) com relação volumoso:concentrado de 60:40 ou 50:50. À cana-de-açúcar, nas dietas com relação volumoso:concentrado 60:40, foram adicionados 0,35 ou 1% da mistura uréia+sulfato de amônio (SA) na proporção 9:1, respectivamente, com base na matéria natural. A adição de 0,35 de uréia+SA à cana-de-açúcar, em uma das dietas, teve como objetivo elevar

o teor de proteína bruta da cana-de-açúcar ao normalmente encontrado na silagem de milho (Valadares filho et al., 2002). À cana-de-açúcar, na dieta com relação volumoso:concentrado de 50:50, foi adicionado 1% de uréia+SA na base da matéria natural. Na formulação das rações concentradas, foram utilizados fubá de milho, farelo de soja, farelo de algodão, uréia e matéria mineral. As dietas foram formuladas para atender às exigências nutricionais, segundo recomendações do NRC (1989). Nas Tabelas 1, 2 e 3, são apresentadas as proporções dos ingredientes das rações concentradas e as composições bromatológicas médias das rações concentradas, da silagem de milho, cana-de-açúcar e das dietas experimentais.

Os carboidratos totais (CHO) foram calculados segundo Sniffen et al. (1992), em que: $CHO = 100 - (\%PB + \%EE + \%CINZAS)$. Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados segundo o NRC (2001), pela seguinte equação: $NDT (\%) = PBD + FDND + CNFD + 2,25EED$, em que: PBD = proteína bruta digestível; FDND = fibra em detergente neutro digestível; CNFD = carboidratos não-fibrosos digestíveis; EED = extrato etéreo digestível.

Os animais foram manejados em baias individuais, onde receberam alimentação fornecida *ad libitum* duas vezes ao dia, às 8 e 17 h, na qual a dieta contendo silagem de milho foi dieta completa e nas dietas à base de cana-de-açúcar o concentrado foi colocado apenas sobre o volumoso, não sendo misturado ao mesmo. Foi feito monitoramento do consumo, diaria-

Tabela 1 - Composição percentual dos ingredientes utilizados nos concentrados (base da matéria seca)

Table 1 - Ingredients (%) of concentrates mixtures (in dry matter basis)

Ingredientes <i>Ingredients</i>	Concentrados <i>Concentrates</i>			
	1	2	3	4
Fubá de milho <i>Corn meal</i>	50,8	49,7	63,7	69,2
Farelo de soja <i>Soybean meal</i>	37,0	37,2	24,4	21,3
Farelo de algodão <i>Cottonseed meal</i>	7,5	7,5	7,5	6,0
Uréia + Sulfato de amônio <i>Urea + Ammonium sulfate</i>	1,5	1,5	0,0	0,0
Mistura mineral <i>Mineral mix</i>	3,2	4,1	4,4	3,5

mente, a fim de manter as sobras de alimentos próximos a 10%, com base na MS.

O preparo das amostras (alimento fornecido, sobras e fezes) e as análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), compostos nitrogenados totais (N), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) foram feitas segundo Silva (1990).

A coleta de urina foi feita, utilizando-se sondas de folley nº 26, segundo metodologia descrita por Valadares et al. (1997b). Os recipientes que receberam a urina continham 500 mL de ácido sulfúrico a

20%. Foram realizados dois tipos de coletas. Em um quadrado latino, foi feita a coleta de 24 horas. Nos dois quadrados latinos restantes, a coleta foi feita durante oito horas (período entre as ordenhas), sendo que o volume obtido durante este tempo foi multiplicado por três. A coleta de urina foi efetuada no 18º e 19º dias de cada período experimental. Da urina coletada, após pesagem, homogeneização e filtração, foram obtidas alíquotas de 10 mL, que foram diluídas em 40 mL de ácido sulfúrico 0,0036 N. Estas amostras tiveram seu pH ajustado abaixo de três e foram acondicionadas em recipientes plásticos e congeladas para posteriores análises.

Tabela 2 - Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), nitrogênio não-protéico (NPN), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHO), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não-fibrosos (CNF), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG) e matéria mineral (MM) dos concentrados, silagem de milho e cana-de-açúcar

Table 2 - Average contents of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), non protein nitrogen (NPN), ether extract (EE), total carbohydrates (CHO), neutral detergent fiber (NDF), non fiber carbohydrates (NFC), acid detergent fiber (ADF), lignin (LIG) and mineral matter (MM) of the concentrates, corn silage and sugar cane

Itens Items	Concentrados ¹ Concentrates				Silagem de milho Corn silage	Cana-de-açúcar Sugar cane
	1	2	3	4		
MS%	85,5	85,3	84,0	85,4	26,3	28,3
DM						
MO ²	93,5	92,6	93,7	94,6	93,8	96,8
OM						
PB ²	28,9	28,4	20,1	18,6	7,1	2,8
CP						
NNP ³	21,1	18,7	9,9	9,9	46,9	28,5
NPN						
EE ²	2,8	2,7	3,1	3,2	2,5	0,6
EE						
CHO ²	61,9	61,5	70,5	72,8	84,2	93,4
CHO						
FDN ²	12,8	13,3	11,7	12,2	54,4	48,5
NDF						
CNF ²	49,1	48,2	58,9	60,6	29,8	44,9
NFC						
FDA ²	6,5	7,9	8,2	6,3	34,8	33,8
ADF						
LIG ²	4,0	5,0	4,5	4,0	7,1	7,9
LIG						
MM ²	6,5	7,4	6,3	5,4	6,2	3,2
MM						

¹ Os concentrados 1, 2, 3 e 4, correspondem às dietas: silagem de milho, 0,35 uréia+SA, 1% uréia+SA (60:40) e 1% uréia+SA (50:50), respectivamente (Concentrates 1, 2, 3 and 4 correspond to the corn silage, 0.35% urea+AS, 1% urea+AS [60:40] and 1% urea+AS [50:50] diets, respectively.)

² Porcentagem da MS (DM percentage).

³ Porcentagem do nitrogênio total (Total nitrogen percentage).

As amostras de leite, aproximadamente 300 mL, foram coletadas no 12º dia de cada período experimental, nas ordenhas da manhã e da tarde, para realizar as análises de compostos nitrogenados totais, alantoína e uréia. O leite foi desproteinizado com ácido tricloroacético (10 mL de leite foram misturados com 5 mL de ácido tricloroacético a 25%, filtrados em papel-filtro e armazenados a -20°C), sendo as

análises de uréia e alantoína realizadas no filtrado.

As purinas absorvidas (X, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de DP (Y, mmol/dia), por meio da equação $Y = 0,85X + 0,385 PV^{0,75}$, 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).

Tabela 3 - Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), nitrogênio não-protéico (NNP), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHO), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), matéria mineral (MM) e nutrientes digestíveis totais (NDT) das dietas experimentais

Table 3 - Average contents of dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), non protein nitrogen (NPN), neutral detergent insoluble nitrogen (NDIN), acid detergent insoluble nitrogen (ADIN), ether extract (EE), total carbohydrates (CHO), neutral detergent fiber (NDF), no fiber carbohydrates (NFC), acid detergent fiber (ADF), lignin (LIG), mineral matter (MM) and total digestible nutrients (TDN) of the experimental diets

Itens Items	Dietas Diets			
	Silagem de milho Corn silage V:C ³ 60:40	Cana-de-açúcar Sugar cane		
		V:C 60:40	V:C 50:50	
		0,35% uréia .35% urea	1% uréia 1% urea	1% uréia 1% urea
MS %	50,4	50,4	49,7	56,2
DM				
MO ¹	93,7	95,1	95,5	95,6
OM				
PB ¹	15,5	15,1	15,3	15,3
CP				
NNP ²	36,6	47,5	54,1	46,8
NPN				
NIDN ²	12,5	14,5	14,7	13,8
NDIN				
NIDA ²	6,4	3,9	4,0	4,2
ADIN				
EE ¹	2,6	1,5	1,6	1,9
EE				
CHO ¹	75,6	78,5	78,6	78,4
CHO				
FDN ¹	37,4	34,6	33,9	30,4
NDF				
CNF ¹	38,2	43,9	44,7	48,0
NFC				
FDA ¹	23,3	22,0	21,5	18,3
ADF				
LIG ¹	5,7	6,9	6,8	6,1
LIG				
MM ¹	6,3	5,0	4,6	4,4
NDT ¹	69,3	68,1	67,9	70,3
TDN				

¹ Porcentagem da MS (DM percentage).

² Porcentagem do nitrogênio total (Total nitrogen percentage).

³ Relação volumoso:concentrado (Forage:concentrate ratio).

A síntese de compostos nitrogenados microbianos no rúmen (Y, gN/dia) foi calculada em função das 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 N 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).

As análises de DP, alantoína (urina e leite) e ácido úrico (urina) foram feitas, aplicando-se método colorimétrico, segundo Fujihara et al. (1987), citados por Chen & Gomes (1992). A excreção total de DP foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretados na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia.

O balanço dos compostos nitrogenados (N) foi obtido pela diferença entre o total de N ingerido e o total de N excretado nas fezes, no leite e na urina. A determinação do N total, no leite e na urina, foi feita segundo Silva (1990).

Foi coletado sangue, usando-se seringas e agulhas descartáveis quatro horas após a alimentação matinal, utilizando-se heparina como anticoagulante. Logo após a coleta, as amostras de sangue foram

centrifugadas (5000 rpm por 15 minutos) e o plasma sanguíneo acondicionado em recipientes de vidros e congelado para posterior determinação de creatinina e uréia. As coletas de sangue foram realizadas no 19º dia de cada período experimental.

A uréia foi determinada na urina, no plasma e no leite desproteínizado, e a creatinina na urina, usando-se kits comerciais (Labtest).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e testes de médias, utilizando-se o programa SAEG, versão 7.1. (UFV, 1997), a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Constam na Tabela 4 os resultados obtidos para o balanço de compostos nitrogenados (N) das dietas experimentais. A ingestão de (N) foi maior ($P < 0,05$) para a dieta à base de silagem de milho, o que ocorreu em função do maior consumo de MS para esta dieta.

A dieta com cana-de-açúcar adicionada de 0,35% de uréia+SA não diferiu ($P > 0,05$) das demais dietas à base do mesmo volumoso, em relação ao consumo de N. Entretanto, o consumo de N foi maior ($P < 0,05$) para a dieta com cana-de-açúcar adicionada de 1%

Tabela 4 - Consumo, excreções médias diárias e balanço de compostos nitrogenados (N) nas diferentes dietas experimentais
Table 4 - Intake, average daily excretion and nitrogenous compounds balance (N) of different experimental diets

Itens Items	Dietas Diets				CV ²
	Silagem de milho Corn silage V:C ¹ 60:40	Cana-de-açúcar Sugar cane			
		V:C 60:40	0,35% uréia .35 urea	1% uréia 1% urea	
Ingestão N (g/dia) N Intake (g/day)	462a	404bc	383c	416b	6,9
Fezes (g/dia) Feces (g/day)	127	116	117	129	-
Urina (g/dia) Urine (g/day)	136	126	104	109	-
Leite (g/dia) Milk (g/day)	110	96	93	102	-
Balanço de N N balance	88a	67b	69b	76ab	39,5

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

Means followed by different letters in the same row are different ($P < .05$) by Tukey test.

¹ Relação volumoso:concentrado (Forage:concentrate ratio).

² Coeficiente de variação (Coefficient of variation).

de uréia+SA com 50% de concentrado, quando comparado ao tratamento com a mesma quantidade de uréia+SA com relação de 60:40.

O balanço de N, para a dieta à base de silagem de milho, foi maior ($P < 0,05$) do que nas dietas com cana-de-açúcar, cuja relação volumoso:concentrado foi de 60:40. Provavelmente, tal fato ocorreu em virtude do maior consumo de N para o tratamento com silagem de milho. Não houve diferença ($P > 0,05$) no balanço de N entre a dieta à base de cana-de-açúcar com 50% de concentrado e a dieta contendo silagem de milho. Entre as dietas contendo cana-de-açúcar não houve diferença ($P > 0,05$) no balanço de N.

Vale salientar que, independentemente das dietas experimentais, não foi verificado balanço de N negativo, o que é indicação de que o consumo de proteína atendeu às exigências protéicas dos animais.

Na Tabela 5, são apresentados os dados referentes à comparação de médias obtidas (24 horas de coleta de urina) e estimadas (a partir de oito horas de coleta) dos volumes urinários e das excreções urinárias de uréia, creatinina, alantoína, ácido úrico e purinas totais, das purinas absorvidas e dos compostos nitrogenados microbiano. Não houve diferença ($P > 0,05$) para nenhuma das variáveis. Portanto, o volume urinário produzido em 24 horas pode ser estimado a partir da coleta parcial de oito horas, reduzindo-se, assim, o tempo de coleta e, conseqüentemente, o estresse provocado nos animais, bem como as chances de ocorrerem lesões no trato urinário.

Os dados referentes às médias diárias das excreções de alantoína na urina e no leite, ácido úrico na urina, purinas totais, das purinas absorvidas e dos compostos nitrogenados microbianos são apresentados na Tabela 6. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre as dietas, para as excreções médias diárias de ácido úrico na urina e alantoína no leite. A excreção média diária de alantoína na urina foi maior ($P < 0,05$) para a dieta à base de silagem de milho, quando comparada com as dietas de cana-de-açúcar com 40% de concentrado. Entretanto, quando comparada com a dieta à base de cana-de-açúcar 50:50, não houve diferença para esta variável. Não houve diferença ($P > 0,05$) na excreção média diária de alantoína entre as dietas à base de cana-de-açúcar. A alantoína representou 90,8% do total de derivados de purinas excretadas. Este valor está próximo aos encontrados por Oliveira et al. (2001) e Vagnoni et al. (1997), isto é, 87,8 e 86,6%, respectivamente. Estes valores sugerem que a excreção de alantoína pode constituir uma boa

variável para representar a excreção de DP, visando a estimativa da produção de proteína microbiana.

A excreção de alantoína no leite representou 3,5% do total de derivados de purinas excretadas. Este valor está próximo aos encontrados por Chen & Gomes (1992), Valadares et al. (1999) e Oliveira et al. (2001), isto é, 4,5%, 4,2 a 5,7% e 5,0%, respectivamente. Entretanto, Susmel et al. (1995) e Gonda & Lindberg (1997) obtiveram valores 10,6 a 10,9% e 0,6 a 1,3%, respectivamente, para excreção de alantoína no leite em relação à excreção urinária.

A excreção média diária total de derivados de purinas, as purinas absorvidas e a estimativa de N microbiano foram maiores ($P < 0,05$), para a dieta à base de silagem de milho, quando comparada com as dietas à base de cana-de-açúcar com 40% de concentrado. Entretanto, quando comparada à dieta de cana-de-açúcar com 50% de concentrado, não houve diferença ($P > 0,05$) para estas variáveis. Não houve diferença na excreção média diária total de derivados de purinas, purinas absorvidas e produção de N

Tabela 5 - Médias diárias e estimadas dos volumes urinários (V), das excreções urinárias de uréia (U), creatinina (C), alantoína (ALA), ácido úrico (AU) e purinas totais (PT), purinas absorvidas (PA), compostos nitrogenados microbianos (Nmic)

Table 5 - Mean daily obtained and estimated means of urine volume (V), urine excretions of urea (U), creatinine (C), allantoin (ALA), uric acid (UA) and total purines (TP), absorbed purines (AP) and microbial nitrogenous compounds (Nmic)

Itens	Observado	Estimado	P	CV ²
Items	Observed	Estimated		
V(L)	10,3	9,8	ns ¹	21,3
V (L)				
U (mg/kgPV)	492	427	ns	20,1
U (mg/kgLW)				
C (mg/kgPV)	24	22	ns	12,5
C (mg/kgLW)				
ALA (mmol/dia)	245	228	ns	12,7
ALA (mmol/day)				
AU (mmol/dia)	14	13	ns	31,1
UA (mmol/day)				
PT (mmol/dia)	267	251	ns	12,4
TP (mmol/day)				
PA (mmol/dia)	267	247	ns	14,7
AP (mmol/day)				
Nmic (g/dia)	194	180	ns	14,7
Nmic (g/day)				

¹ ns = não significativo ($P > 0,05$) pelo teste Tukey.

² Coeficiente de variação (Coefficient of variation).

microbiano, entre as dietas contendo cana-de-açúcar.

O valor médio encontrado de N-microbiano, no presente estudo, foi 193 g/dia, que é semelhante ao encontrado por Oliveira et al. (2001) e inferior à faixa de 278 a 419 g/dia encontrada por Valadares et al. (1999). Oliveira et al. (2001) trabalharam com vacas com produções médias diárias próximas (18,9 kg leite/dia) às produções médias obtidas no presente trabalho. Entretanto, Valadares et al. (1999) trabalharam com vacas de alta produção.

Foi observado que a quantidade de N-microbiano produzido representa 48; 44; 47 e 47% do N ingerido para as dietas 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Os valores obtidos para a produção microbiana, utilizando os derivados de purina parecem adequados, uma vez que a eficiência microbiana média estimada para as dietas (expressa em gPBmic/100gNDT) foi de 11, estando este valor próximo à média citada pelo NRC (2001) de 13.

Constam na Tabela 7 as médias das concentrações plasmáticas de uréia, as excreções de uréia no leite e na urina e creatinina na urina das dietas experimentais.

Não houve diferença ($P>0,05$) nas excreções médias diárias de uréia na urina entre as dietas experimentais, apesar de ter havido diferença entre ingestões de PB nos diferentes tratamentos. Oliveira et al. (2001) encontraram comportamento linear crescente para a excreção urinária de uréia em função dos níveis crescentes de NNP na dieta, com valores variando de 208 a 375 mg/kg de PV. Segundo Valadares et al. (1997a), baixas ingestões de compostos nitrogenados possibilitam maior conservação de uréia, ao passo que maior excreção de uréia ocorre mediante altas ingestões de nitrogênio.

Não houve diferença ($P>0,05$) nas excreções médias diárias de creatinina na urina, entre as dietas. O valor médio encontrado para a excreção diária de creatinina obtido a partir da coleta total de urina, 24 mg/kg de PV, foi semelhante ao encontrado por Oliveira et al. (2001). Este valor pode ser usado para estimar o volume urinário de vacas mestiças Holandês-Zebu, a partir da amostra *spot* de urina. Rennó et al. (2000b), trabalhando com novilhos, verificaram

Tabela 6 - Excreções médias diárias de alantoína na urina (ALAU) e no leite (ALAL), ácido úrico na urina (AU), purinas totais (PT), purinas absorvidas (PA) e compostos nitrogenados microbianos (Nmic) nas dietas experimentais

Table 6 - Average daily excretions of allantoin in urine (ALAU) and in milk (ALAM), uric acid in urine (UA), total purines (TP), absorbed purines (AP) and microbial nitrogenous compounds (Nmic) of the experimental diets

Itens Items	Dietas Diets			CV ²	
	Silagem de milho Corn silage V:C ¹ 60:40	Cana-de-açúcar Sugar cane			
		V:C 60:40	V:C 50:50		
		0,35% uréia .35 urea	1% uréia 1% urea	1% uréia 1% urea	
ALAU (mmol/dia) ALAU (mmol/day)	274a	227b	227b	243ab	13,2
ALAL (mmol/dia) ALAM (mmol/day)	10	9	9	10	16,8
AU (mmol/dia) UA (mmol/day)	15	15	14	16	27,1
PT (mmol/dia) TP (mmol/day)	300a	252b	250b	268ab	12,2
PA (mmol/dia) AP (mmol/day)	304a	247b	245b	267ab	14,4
Nmic (g/dia) Nmic (g/day)	221a	180b	178b	194ab	14,4

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes ($P<0,05$) pelo teste Tukey.

Means followed by different letters in the same row are different ($P<0,05$) by Tukey test.

¹ Relação volumoso:concentrado (Forage:concentrate ratio).

² Coeficiente de variação (Coefficient of variation).

que a excreo de creatinina no foi afetada pelo teor de PB da dieta, sendo que o valor médio encontrado foi 27 mg/kg de PV. Valadares et al. (1997a) também no encontraram efeito do teor de PB da dieta na excreo de creatinina, encontrando-se valor médio de 24 mg/kg de PV para novilhos Zebu.

A dieta à base de cana-de-açúcar adicionada de 0,35% de uréia+SA, cuja relao volumoso:concentrado foi 60:40, apresentou maior ($P<0,05$) concentrao de uréia plasmática. A concentrao plasmática de uréia dos animais recebendo dieta à base de silagem de milho foi menor ($P<0,05$) do que a dos animais cuja dieta era à base de cana-de-açúcar adicionada de 1% de uréia+SA, 60:40. No houve diferença ($P>0,05$) entre as dietas à base de cana-de-açúcar com 1% de uréia+SA, independentemente da relao volumoso:concentrado, em relao à concentrao plasmática de uréia. Oliveira et al. (2001) verificaram comportamento linear crescente da concentrao plasmática de uréia, em funo dos níveis de NNP. Esses autores encontraram o valor médio de 43 mg/dL

para concentrao de uréia plasmática, a qual foi inferior ao encontrado no presente estudo (50,0 mg/dL). Isto pode ter ocorrido, provavelmente, em funo do maior teor de PB nas dietas do presente experimento (Baker et al., 1995).

A excreo média diária de uréia no leite foi maior ($P<0,05$) para a dieta à base de cana-de-açúcar adicionada 1% uréia+SA, cuja relao volumoso:concentrado foi 60:40, quando comparada com a dieta à base de silagem de milho. No houve diferença ($P>0,05$) na excreo de uréia no leite, entre as dietas experimentais à base de cana-de-açúcar.

Concentraes de NUP e NUL de 19 a 20 mg/dL e 24 a 25 mg/dL, respectivamente, representariam limites a partir dos quais estariam ocorrendo perdas de nitrogênio dietético em vacas leiteiras (Oliveira et al., 2001). Os valores médios encontrados no presente estudo de NUP, para as dietas experimentais, foram superiores aos limites propostos, o que indica perda de nitrogênio dietético. Entretanto, ao analisar os valores médios de NUL para as dietas, verifica-se

Tabela 7 - Concentraes médias de uréia plasmática (UP), N-uréia plasmática (NUP), uréia no leite (UL), N-uréia no leite (NUL), relao NUL/NUP e excrees médias diárias de uréia (U) e creatinina (C) na urina, nas diferentes dietas experimentais
Table 7 - Plasma urea concentrations means (PU), plasma N-urea (PNU), urea in the milk (UM), N-urea in the milk (NUL), NUL/NUP ratio and average daily excretions of urea (U) and creatinine (C) in the urine of the different experimental diets

Itens Items	Dietas Diets			CV ²	
	Silagem de milho Corn silage V:C ¹ 60:40	Cana-de-açúcar Sugar cane			
		V:C 60:40	V:C 50:50		
UP (mg/dL)	44c	0,35% uréia .35 urea	1% uréia 1% urea	1% uréia 1% urea	14,2
PU (mg/dL)		58a	51b	47bc	
NUP (mg/dL)	21c	27a	24b	22bc	14,2
PNU (mg/dL)					
UL (mg/dL)	34b	38ab	40a	36ab	19,9
UM (mg/dL)					
NUL (mg/dL)	16b	18ab	19a	17ab	19,9
NUL (mg/dL)					
NUL/NUP	0,76	0,66	0,78	0,76	21,1
U (mg/kgPV)	496	508	428	424	19,3
U (mg/kgLW)					
C (mg/kgPV)	24	22	23	23	11,6
C (mg/kgLW)					

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes ($P<0,05$) pelo teste Tukey.

Means followed by different letters in the same row are different ($P<0,05$) by Tukey test.

¹ Relao volumoso:concentrado (Forage:concentrate ratio).

² Coeficiente de variao (Coefficient of variation).

que estes estão abaixo daqueles limites, indicando que não ocorreu perda de proteína dietética. Valadares et al. (1997a) encontraram valores de 14 a 16 mg/dL de NUP, representando limites a partir dos quais estariam ocorrendo perdas de proteína dietética. Estes valores corresponderam à máxima eficiência microbiana. Entretanto, esses autores trabalharam com novilhos zebuínos.

A dieta à base de silagem de milho apresentou menor ($P < 0,05$) concentração de NUP, quando comparada às dietas à base de cana-de-açúcar com 40% de concentrado. Este fato aliado à ausência de diferença ($P > 0,05$) quanto à excreção urinária de uréia entre as dietas, mesmo havendo maior consumo ($P < 0,05$) de PB para a dieta contendo silagem de milho, indica melhor utilização de N para os animais na dieta à base de silagem de milho. Entretanto, para o NUL, os valores observados para as dietas não foram muito diferenciados, sendo que o menor valor (16 mg/dL) obtido para a dieta contendo silagem de milho não diferiu ($P > 0,05$) daquele obtido para a dieta à base de cana-de-açúcar com 40% de concentrado e adicionada de 0,35% de uréia+SA, nem daquele obtido para a dieta contendo cana-de-açúcar com 50% de concentrado. Tal fato talvez indique ser o NUP mais eficiente que o NUL, para detectar o metabolismo protéico do animal.

Conclusões

As dietas contendo cana-de-açúcar com 50% de concentrado e corrigida com 1% de uréia+SA proporcionam produção de proteína microbiana e balanço de compostos nitrogenados semelhantes às dietas à base de silagem de milho, relação volumoso:concentrado de 60:40, na base da MS, em vacas produzindo, em média, 20 kg de leite/dia.

Vacas leiteiras alimentadas com dietas à base de silagem de milho com 40% de concentrado apresentam concentrações de uréia no leite e no plasma semelhantes às aquelas alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar com relação volumoso:concentrado de 50:50, podendo indicar eficiência semelhante na utilização do nitrogênio dietético.

O volume urinário e as excreções urinárias de uréia, creatinina, alantóina, ácido úrico e purinas totais, as purinas absorvidas e a estimativa dos compostos nitrogenados microbiano produzidos em 24 horas podem ser estimados a partir da coleta parcial de oito horas, em vacas em lactação.

Literatura Citada

- BAKER, L.D.I.; FERGUSON, J.D.; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein of milk to different protein feedings schemes for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.2424-2434, 1995.
- 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, n.11, 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, UK: Rowett Research Institute, 1992. 21p. (Occasional Publication)
- COTO, G.; RODRIGUES, M.M.; INFANTE, F.P. et al. The effect of increasing consumption of concentrates, creatinine, creatine and allantoin in the urine of rams fed hay. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v.22, n.2, p.279-284, 1988.
- 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.
- HARPER, H.A.; RODWELL, V.W.; MAYES, P.A. **Manual de química fisiológica**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 1982. 736p.
- 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.
- LOBLEY, G.E.; CONNELL, A.; LOMAX, M.A. et al. The effect of nitrogen and protein supplementation on feed intake, growth and digestive function of steers with different *Bos taurus* genotypes when fed a low quality grass hay. **British Journal of Nutrition**, v.73, p.667-685, 1995.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1989. 158p.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- 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 ^{15}N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal of Nutrition**, v.75, p.699-709, 1996.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES R.F.D.; VALADARES FILHO S.C. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000a.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. 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, 2000b.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.J. A net carbohydrate

- and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- SCHEPERS, A.J.; MEIJER, R.G.M. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.579-584, 1998.
- SIDDONS, R.C.; NOLAN, J.V.; BEEVER, D.E. et al. Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of N. **British Journal of Nutrition**, v.54, n.1, p.175-187, 1985.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológico**. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1990. 165p.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets; II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- SUSMEL, P.; SPANGHERO, M.; STEFANON, B. et al. Nitrogen balance and partitioning of some nitrogen catabolites in milk and purine of lactating cows. **Livestock Production Science**, v.44, p.207-209, 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, p.257-266, 1994.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas)**. Versão 7.1. Viçosa, MG, 1997. 150p. (Manual do usuário)
- VAGNONI, D.B.; BRODERICK, M.K.; CLAYTON, R.D. 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 FILHO, S.C. Eficiência da síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1995. p.355-388.
- VALADARES FILHO, S.C.; ROCHA JR., V.R.; CAPPELLE, E.R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos. CQBAL 2.0**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 297p.
- 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, n.12, p.2686-2696, 1999.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; SAMPAIO, I.B. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentrações de uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997a.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; SAMPAIO, I.B. et al. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de folley. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997b.
- 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.

Recebido em: 09/08/02

Aceito em: 23/06/03