

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**NITROGÊNIO URÉICO NO LEITE DE VACAS
MANTIDAS EM PASTAGENS DE AVEIA E AZEVÉM**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Diego Zeni

**Santa Maria, RS, Brasil
2010**

NITROGÊNIO URÉICO NO LEITE DE VACAS MANTIDAS EM PASTAGENS DE AVEIA E AZEVÉM

por

Diego Zeni

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Clínica Médica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. PhD. Marcelo da Silva Cecim

**Santa Maria, RS, Brasil
2010**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo-assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**NITROGÊNIO URÉICO NO LEITE DE VACAS MANTIDAS EM
PASTAGENS DE AVEIA E AZEVÉM**

elaborada por
Diego Zeni

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marcelo Cecim, Prof. PhD. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Marcelo Soares, Prof. Dr. (UFSM)

Márcio Nunes Corrêa, Prof. Dr. (UFPel)

Santa Maria, 24 de fevereiro de 2010

“É muito melhor ousar fazer coisas grandiosas, triunfar gloriosamente, mesmo que com alguns fracassos no meio do caminho, do que se igualar àquelas pobres almas que não aproveitam nem sofrem muito, pois vivem na penumbra cinza de quem não sabe o que é a vitória nem a derrota”.

Theodore Roosevelt

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Elivio e Neusa, que sempre me apoiaram e acreditaram no meu potencial, nunca medindo esforços para me ajudar nesta caminhada.

Ao meu irmão Jovani, *"in memoriam"*, que lá de cima está vendo e torcendo por mim.

À minha namorada Mariane, que sempre me ajudou e soube compreender minha ausência para poder cumprir meus deveres. Obrigado pelo seu amor e carinho.

A todas as pessoas que realmente torcem por mim.

A vocês dedico.....

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, e por me dar saúde para seguir em frente na caminhada da vida;

À Universidade Federal de Santa Maria, pela minha formação;

Aos Professores, pelos seus ensinamentos durante a pós-graduação;

Ao meu orientador e amigo professor Marcelo Cecim pelos seus ensinamentos em aulas e nas muitas conversas na sua sala;

Aos meus colegas de pós-graduação, pela convivência e troca de conhecimentos nas aulas;

À professora Marta Leal, por todos seus ensinamentos;

Ao professor José Laerte Nornberg, pela realização das análises bromatológicas dos alimentos;

Aos professores José Henrique, Marcelo Soares, e doutorando Rogério Ferreira, pela ajuda na estatística;

Aos estagiários do Lema, Gabriela, Nathália, Clarissa, Émerson, Daniel, Rafael, Cadore, Fernanda, Patrícia, Thirssa, Carol, Tina e Francisco, "*in memoriam*", que sempre colaboraram nos trabalhos dentro do laboratório.

Às propriedades que dispuseram seus animais para coleta dos dados.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

A todos, meu muito obrigado !

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

NITROGÊNIO URÉICO NO LEITE DE VACAS MANTIDAS EM PASTAGENS DE AVEIA E AZEVÉM

AUTOR: DIEGO ZENI

ORIENTADOR: PROF. PHD. MARCELO CECIM

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 24 de fevereiro de 2010.

O nitrogênio uréico do leite é oriundo principalmente do nitrogênio amoniacal absorvido pela parede ruminal sendo que as concentrações de NUL podem ser utilizadas para estimar as concentrações de nitrogênio uréico no sangue (NUS) ou no plasma (NUP). Quando a concentração de amônia no rúmen excede a capacidade de captura e utilização pela microbiota ruminal, a mesma é absorvida pela parede do rúmen e transportada ao fígado, por meio do sistema porta e, então, transformada em uréia. Assim o objetivo deste trabalho, foi investigar se existe excesso de proteína na dieta de bovinos leiteiros, através análise da dieta e do NUL. Foram coletadas amostras de leite de 598 animais de 11 rebanhos, além da produção, dieta e os alimentos para análise bromatológica. Foi realizado, a determinação das concentrações de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, CCS e o NUL. O NUL se relacionou com o aumento da concentração de proteína ingerida, e com a diminuição da energia total e isto é demonstrado pela equação $NUL = 0.87 + 7.2PI - 0.31ET$ e $P < 0,0001$. Ao analisar a distribuição dos rebanhos por produção (Prod. < 15 litros, Grupo 1; Prod entre 15 e 25 litros Grupo 2; e prod > que 25 litros, grupo 3), pode-se observar que estes diferiram estatisticamente quanto a proteína ingerida e a energia ingerida, mas quanto ao NUL, não existiu diferença entre os animais que produzem mais de 15 litros/dia. Ao analisar a produção média do rebanho, com a PI e a ET, para avaliar o NUL, formou-se a equação, $NUL = 3.39 + 5.68PI - 0.62 ET + 0.43 Prod$ e $P < 0,0001$ Com isso, pode-se concluir que no RS em determinados meses o NUL esta aumentado, principalmente em rebanhos que apresentam maiores médias de produção.

Termos para indexação: NUL, energia, proteína, excesso.

ABSTRACT

MS Dissertation in Veterinary Medicine
Posgraduacion Program in Veterinary Medicine
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

MILK UREA NITROGEN FROM COWS FORRAGING WINTER OATS AND RYEGRASS

AUTHOR: DIEGO ZENI

ADVISER: PROF. PHD. MARCELO CECIM

Date and Location of Defense: Santa Maria, 24th february 2010.

Milk urea nitrogen (MUN) is derived from protein metabolism as well as ammonia formed with the rumen. MUN can be used to estimate Blood Urea Nitrogen (BUN). The ammonia which is formed in the rumen and is not utilized in bacterial metabolism is absorbed by rumen wall and transformed into urea in the liver. The objective of the present paper is to evaluate a possible protein excess in the diet of dairy herds through MUN levels. A total of 598 animals from 11 different herds were sampled. Also, feed consumed was sampled for analyses and individual cow production recorded. In milk samples, fat, protein, lactose, total solids, somatic cell count and MUN were measured. MUN was positively related to total protein consumption and negatively related to total energy, which is demonstrated by the equation $NUL = 0.87 + 7.2PI - 0.31ET$ and $P < 0,001$. When the herds are blocked by production (Group 1 < 15 L; Group 2 between 15 and 25 L; and Group 3 > 25 L) there is a difference in protein and energy consumption, however, NUL was not different between groups 2 and 3. When production is considered, the correlation yields the equation $NUL = 3.39 + 5.68PI - 0.62 ET + 0.43 Prod$ and $P < 0,0001$. Based on the results it is concluded that in RS state, NUL is elevated during winter months, principally in higher producing herds.

Index terms: MUN, protein energy intake, protein excess.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Representação da inter-relação das vias metabólicas energéticas com o ciclo da uréia nos hepatócitos periportais (METZELER, 2001)	15
--	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
CNE	Carboidratos não estruturais
dl	Decilitro
E.T.	Energia Total
Mg/dl	Miligramas por decilitro
min	Minuto
mL	Mililitro
NUL	Nitrogênio uréico no leite
NH ₃ ⁺	Amônia
NH ₄ ⁺	Amônio
NRC	National Research Council
PI	Proteína Ingerida
PM	Proteína Metabolizável
PDR	Proteína degradável ruminal
PNDR	Proteína não degradável ruminal
pH	Potencial de hidrogênio
Prod.	Produção
RPM	Rotações por minuto
U	Unidade
v	Volume
µg	Micrograma
µl	Microlitro
>	Maior
<	Menor

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	9
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Nitrogênio uréico	13
2.2 Ciclo da uréia	14
2.3 Nitrogênio uréico no leite	16
2.4 Nutrição de vacas de leite	16
2.5 Variação Forrageira no RS	18
2.6 Nitrogênio uréico e as perdas reprodutivas	20
2.7 Poluição ambiental	21
2.8 Poluição do ar	23
3 MANUSCRITO	24
4 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1 INTRODUÇÃO

Hoje, o Rio Grande do Sul é o terceiro maior produtor de leite do país, com pouco mais de 10% do total produzido nacionalmente. Com esses novos investimentos, a capacidade de industrialização chegará inicialmente a 6 milhões de litros de leite por dia. Apesar do aumento da produção de leite no Rio Grande do Sul ter apresentado um incremento de quase 50% nos últimos dez anos (ANUALPEC, 2008), existe ainda a necessidade de aumentar mais 50% para atender a demanda dessas indústrias já instaladas no estado.

Nos últimos 20 anos, a produtividade média brasileira aumentou apenas 481 litros/vaca/ano em comparação aos Estados Unidos da América (EUA) que aumentou 2.321 litros/vaca/ano. Esse último país é o maior produtor mundial, com média de 9.190 litros/vaca/ano (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2007). Segundo o IBGE (2006), a produção média do Rio Grande do Sul está aproximadamente em 2.119 litros/vaca/ano, sendo o segundo estado brasileiro em produtividade por vaca, atrás de Santa Catarina.

A produção brasileira, em 2007, foi estimada em 26,4 bilhões de litros, gerando um valor bruto da produção de aproximadamente R\$ 15 bilhões (CNA, 2008). O setor primário envolve cerca de cinco milhões de pessoas, considerando, entre eles, os 1,3 milhões de produtores de leite.

No Brasil, a produção de leite, como os outros segmentos da atual sociedade, é uma atividade cada vez mais competitiva. Portanto, é importante quantificar e qualificar os fatores que podem influenciá-la, buscando ganhos efetivos na quantidade e qualidade do leite produzido, na tentativa de suprir a demanda nacional (COLDEBELLA *et al.*, 2004).

Muitas das desordens produtivas ou de saúde, em vacas de leite podem ser favorecidas por um manejo alimentar inadequado, ou pela falta de capacidade no controle da dieta, sendo necessário o controle das condições fisiológicas normais (ENJALBERT, 2006). Ainda, segundo Enjalbert (2006) dietas inadequadas podem ser relacionadas com os seguintes passos: cálculo da dieta, preparação da dieta, consumo da dieta ou digestão e eficiência metabólica dos nutrientes.

O custo de produção de leite no Brasil é relativamente baixo, mas não faz

parte do grupo de países com menor custo de produção, como Argentina, Austrália e Nova Zelândia, mas ainda pode melhorar. Em 2006, o custo de produção de 100 Kg de leite no Brasil era de aproximadamente US\$ 21, enquanto na Argentina era de US\$ 13, na Austrália US\$ 14 e, na Nova Zelândia US\$ 17, muito mais barato se comparado a países como EUA US\$ 33 e Alemanha US\$ 54 para cada 100 Kg de leite (ANUALPEC, 2009).

O Brasil continua competitivo no mercado mundial em termos de custo de produção. Mas tem muito a melhorar nos índices de produtividade. O país produz em média 4,5Kg/vaca/dia. Na Argentina, a produção média diária por vaca é de 18 Kg e na Nova Zelândia, 14 Kg (ANUALPEC, 2009). A causa da diferença é a qualidade e quantidade das pastagens.

Algumas mudanças são esperadas a médio e longo prazos no segmento lácteo. A profissionalização da produção de leite, através da melhora da nutrição e manejo dos animais além da melhora genética dos rebanhos (NOVO e CAMARGO, 2005). Consolidação da Indústria láctea e aumento do consumo interno. Segundo ANUALPEC (2009), o brasileiro consome, em média, 134 litros de leite por ano, muito abaixo das recomendações da Organização Mundial da Saúde (174 litros/ano per capita) e do Ministério da Saúde (200 litros/ano por pessoa), indicando que há espaço para crescimento interno. Na Argentina, o consumo anual é de 240 litros per capita e nos EUA, 260 litros (ANUALPEC, 2009). O potencial do Brasil de se tornar um grande exportador de produtos lácteos é inegável sendo que os baixos custos de produção conferem uma grande competitividade ao segmento (CNA, 2006).

É necessário que técnicos e produtores conheçam as condições de cada região, realizando tomadas de decisões quanto a dieta dos animais, para se conseguir produzir mais com menos custo. Evitando-se perdas produtivas por excesso ou falta de nutrientes, como por exemplo, o excesso de proteína degradável ruminal, que acaba levando a um aumento do nitrogênio uréico, o que poderá acarretar em inúmeras perdas produtivas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nitrogênio uréico

O nitrogênio uréico plasmático é oriundo do nitrogênio amoniacal absorvido pela parede ruminal e do nitrogênio amoniacal proveniente da deaminação de aminoácidos, sejam eles oriundos da absorção pelo trato digestivo ou oriundos da mobilização dos tecidos corporais e que não foram utilizados pelo animal (DIJKSTRA *et al.*, 1998). Roseler *et al.* (1993) afirmaram que o nitrogênio oriundo da degradação protéica no rúmen é o principal contribuinte para a uréia plasmática. Quando a concentração de amônia no rúmen excede a capacidade de captura e utilização pela microbiota ruminal, a mesma é absorvida pela parede do rúmen e transportada ao fígado, por meio do sistema porta e, então, transformada em uréia. A difusão da amônia pelas membranas lipídicas celulares, tal como a parede ruminal, ocorre somente na forma não-ionizada (NH_3). Uma vez que o pK_a da amônia é igual a 9,25 e o pH ruminal entre 6,0-6,8, a principal forma em que a amônia é encontrada no rúmen é como íon amônio (NH_4^+). Portanto, além das concentrações ruminais de amônia, sua absorção pela parede do rúmen também é influenciada pelo pH ruminal e por todos fatores que afetam esse parâmetro. A amônia, por ser tóxica ao animal, é rapidamente convertida em uréia no fígado. O excesso de aminoácidos e peptídeos é deaminado no fígado e o nitrogênio, convertido em uréia (SWENSON e REECE, 1993).

O pH ruminal influi diretamente na variação das concentrações de N amoniacal ruminal, que podem variar de 3 à 45 mmol/L (HUNTINGTON e ARCHIBEQUE, 1999). A elevação do pH favorece a maior proporção da forma ionizada ou livre (NH_3) sobre a forma não ionizada (NH_4^+), que estará presente em maiores proporções quando o rúmen apresentar pH ácido (VISEK, 1968). A microbiota ruminal possui um limiar para a utilização de NH_4^+ , e, quando este é excedido, ocorre o acúmulo de NH_4^+ no rúmen, fato que irá alcalinizar o pH ruminal e estimular a atividade de urease bacteriana, causando a produção excessiva de NH_4^+ . Esse processo geralmente ocorre quando o pH ruminal se encontra entre 6,0 e 6,7 (MOORE e VARGA 1996). Em razão da alcalinização do ambiente ruminal, há

a maior conversão de NH_4^+ em NH_3 , que é lipossolúvel e absorvido facilmente pela parede ruminal (HALIBURTON e MORGAN, 1989; HUNTINGTON e ARCHIBEQUE, 1999). A velocidade máxima de absorção de NH_3 se dá em um pH superior a 7,5; em pH inferiores a 6,7 sua absorção estará diminuída. No entanto, o NH_4^+ é hidrossolúvel e, conseqüentemente, apresenta uma lenta absorção ruminal (VISEK, 1984; HUNTINGTON e ARCHIBEQUE, 1999).

A uréia entra no sistema circulatório pelos sinusóides hepáticos, que drenam para a veia hepática e se torna parte de todo nitrogênio uréico do sangue. A uréia é filtrada do sangue pelos rins, sendo excretada pela urina. O sangue entra nos rins por meio da artéria renal e é filtrado pelos néfrons (GUYTON, 1982). Esse processo concentra a uréia para excreção na urina. Por causa do fluxo contra-corrente e das diferenças na permeabilidade da membrana ao longo da porção ascendente e descendente das alças de Henle, um gradiente de concentração para difusão da uréia dentro da urina é criado para remover uréia do sangue (SWENSON e REECE, 1993).

2.2 Ciclo da uréia

O ciclo inicia-se no interior das mitocôndrias dos hepatócitos, porém três de seus passos ocorrem no citosol, portanto, o fígado é o principal órgão da detoxificação de NH_3 . Depois de sua absorção, a NH_3 chega ao fígado, via veia porta, onde é detoxificado a uréia, composto de 40 vezes menos tóxico (HUNTINGTON e ARCHIBEQUE, 1999).

O passo inicial na produção de uréia é a entrada de dois grupos amino no ciclo: o primeiro, derivado diretamente da NH_3 disponível no interior da mitocôndria, ou derivada da desaminação, ou ainda trazida do intestino pela via porta. A NH_3 é empregada na síntese de carbamil fosfato junto com o bicarbonato (HCO_3^-) produzido pela respiração mitocondrial. O segundo grupo amino é fornecido pelo aspartato gerado na mitocôndria por transaminação e transportado para o citosol (DODGSON e FORSTER, 1986).

A formação de carbamil fosfato ocorre na mitocôndria, catalisada pela carbamil fosfato sintetase I (CPS I). Esta enzima possui um alto potencial de transferência, por isto é utilizado na transferência do grupo amino para a ornitina, que origina a citrulina e inicia o ciclo (KANEKO, 1997).

A seguir, a citrulina deve ser transferida ao citosol diretamente ao sítio ativo de uma molécula da argininosuccinato sintetase. Esta enzima catalisa a reação que combina a citrulina com aspartato para formar argininosuccinato, isto indica que as enzimas mitocondriais e citosólicas envolvidas no ciclo estão agregadas. Por sua vez, o argininosuccinato é clivado em arginina e fumarato, este último ingressa no ciclo de Krebs (HAUSSINGER, 1990).

Para finalizar o ciclo, a arginina dá origem à uréia e à ornitina em uma reação catalisada pela arginase. A uréia é lançada no sangue e a ornitina retorna ao ciclo da uréia (VISEK, 1979).

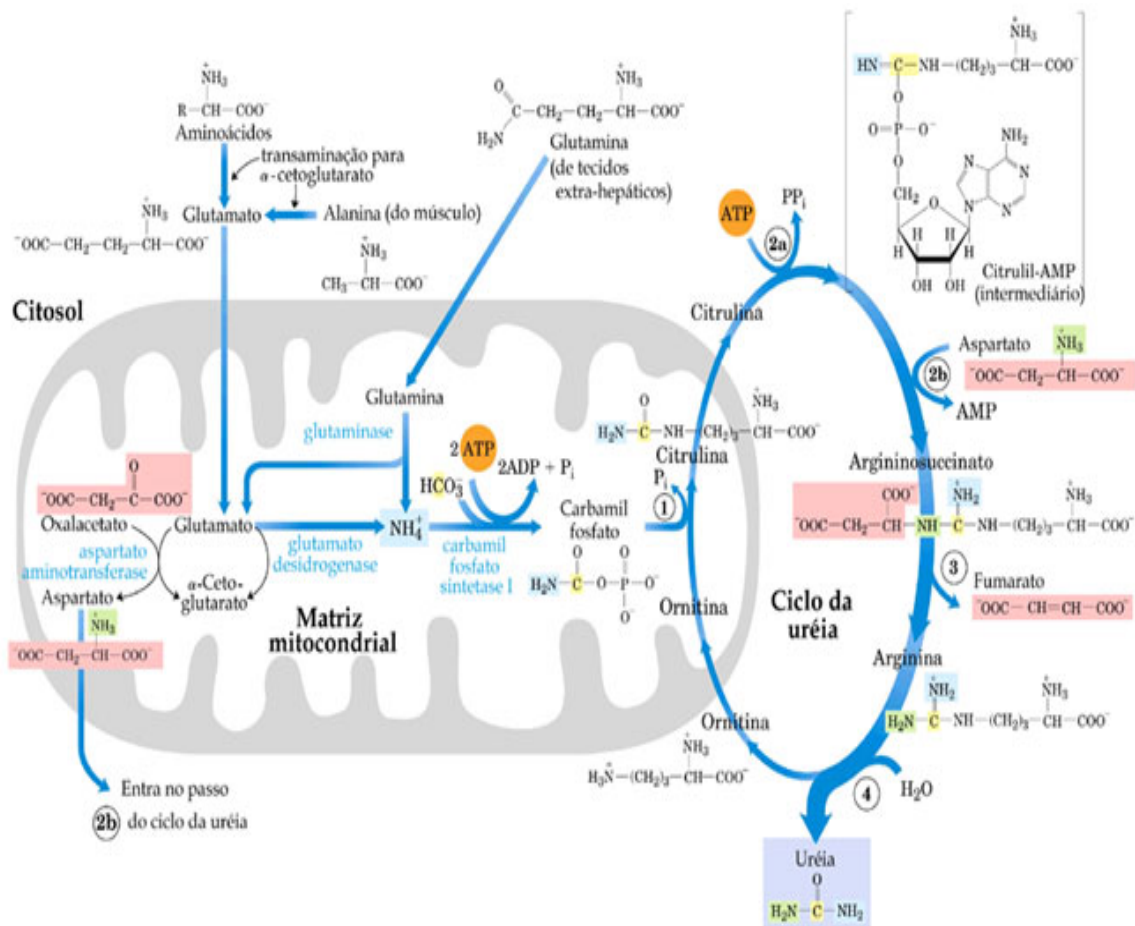


FIGURA 1 – Representação da inter-relação das vias metabólicas energéticas com o ciclo da uréia nos hepatócitos periportais (METZELER, 2001).

A NH_3 restante, não metabolizada a uréia, é incorporada a glutamina que transporta a NH_3 em uma forma não tóxica, favorecendo sua excreção urinária (MAZZAFERRO *et al.*, 2000). A síntese de glutamina é o segundo maior mecanismo

pelo qual os mamíferos podem metabolizar a amônia em excesso, assim como a excreção urinária de amônio. Cerca de 1/3 da amônia presente no sangue portal é detoxificada pela síntese de glutamina (COOPER, 1994).

2.3 Nitrogênio uréico no leite

A uréia é uma pequena molécula neutra que se difunde facilmente pelas membranas. Uma vez que o leite é secretado pelas células alveolares da glândula mamária, a uréia se difunde para dentro ou para fora das células secretoras, entrando em equilíbrio com a uréia plasmática (JONKER *et al.*, 1998). O nitrogênio não-protéico representa entre 5% e 6% do total de nitrogênio do leite, enquanto que o nitrogênio protéico representa 95% desse total. O nitrogênio protéico do leite é formado por 80% de caseína e 20% de proteínas do soro. Por sua vez, o nitrogênio não-protéico é composto de 30-50% de nitrogênio uréico, sendo o restante formado, principalmente, pela creatinina, ácido úrico, aminoácidos e amônia (ROSELER *et al.*, 1993; BRODERICK e CLAYTON, 1997).

Segundo Roseler *et al.* (1993), as concentrações de NUL podem ser utilizadas para estimar as concentrações de nitrogênio uréico no sangue (NUS) ou no plasma (NUP), uma vez que o coeficiente de correlação entre NUP e NUL foi de 0,88. Jonker *et al.* (1998) concordam com essa afirmativa. Ao estudar as concentrações de NUS e NUL ao longo do dia, Gustafsson e Palmquist (1993) demonstraram que as concentrações de NUS sobem após a alimentação, atingindo pico 3 horas após seu início, voltando às concentrações iniciais, obtidas antes da refeição, em 5 a 6 horas. As concentrações de NUL apresentaram semelhante padrão de resposta ao longo do dia, apesar de atrasadas em uma hora em relação às de NUS.

2.4 Nutrição de vacas de leite

Proteínas são macromoléculas presentes nas células com funções diversas, como componentes estruturais, funções enzimáticas, funções hormonais, recepção de estímulos hormonais e armazenamento de informações genéticas (SANTOS, 2006). Ao se aumentar o teor de proteína bruta da dieta, de 12% a 18%, aumenta-se também a produção de leite, em virtude do maior consumo de matéria seca. Embora

se reconheça que o aumento no consumo de matéria seca, observado ao se aumentar a proteína bruta da dieta de 8% para 15%, ocorra em virtude do aumento da digestibilidade, aumentos no consumo de matéria seca, ao se elevar a proteína de 15% para 18%, possuem causa desconhecida (HUBER e KUNG, 1981).

Entretanto, Hogan (1975), Edwards *et al.* (1980) e Kung e Huber (1983) demonstraram que aumentos crescentes de proteína na dieta produzem incrementos decrescentes de produção de leite, ou seja, a adição de uma unidade de proteína na dieta resulta em aumentos de produção de leite cada vez menores. Portanto, o aumento dos teores de proteína na dieta nem sempre é economicamente viável, em virtude do custo adicional da proteína excedente. Assim como a deficiência, o excesso de proteína na dieta também causa impacto econômico sobre a atividade leiteira. Jonker e Kohn (1998) determinaram que os teores de proteína, normalmente utilizados por propriedades leiteiras americanas, eram 8% a 16% maiores que os recomendados pelo NRC (1989). Nessas condições, é possível que 0,55 a 0,99 quilo de equivalente em farelo de soja esteja sendo utilizado em excesso. Ainda segundo esses autores, cada incremento (mg/dL) na concentração de NUL, de 16 para 20 mg/dL, representa um gasto adicional de US\$ 70,00/vaca/ano com a aquisição de suplementos protéicos. Além disso, a utilização de NUL para ajustar o conteúdo de proteína e energia da ração pode, por meio da redução no custo de alimentação e aumento de desempenho, gerar benefícios da ordem de 10:1 (NELSON, 1995).

De acordo com Ferguson (1997), o excesso de 20% de proteína na dieta, aumenta o custo aos produtores em US\$ 50,00/vaca/ano (ou seja, 100 vacas = US\$ 5.000,00/ano). No caso do teste de NUL, o custo é de US\$ 0,50/vaca/mês (ou seja, 100 vacas = US\$ 50,00/mês = US\$ 600,00/ano).

Além do custo adicional com alimentação, a detoxificação da amônia pelos tecidos também é um processo energeticamente caro. A conversão de duas moléculas de amônia em uma molécula de uréia gasta 4 ATPs, de forma que a excreção de um grama de nitrogênio pela urina custa 5,45 Kcal de energia líquida para lactação (BLASTER, 1962) ou 13,3 Kcal de energia digestível (BRODERICK e CLAYTON, 1997). Se o consumo de 100 gramas de proteína bruta que não é utilizada pelo organismo representa uma perda de 0,2 Mcal de energia líquida (HARESIGN e COLE, 1988), então o consumo de 1.000 gramas de PB em excesso resultaria em uma perda de 2 Mcal de energia líquida por dia. Isso significa quase 30% da energia de manutenção de uma vaca leiteira ou energia suficiente para

produção de, aproximadamente, 3 quilos de leite. Ao desenvolver um modelo matemático para estimar a excreção urinária de nitrogênio por vacas em lactação, Jonker *et al.* (1998) concluíram que, a cada aumento de 1mg/dL de NUS, havia excreção adicional de 12,54 gramas de nitrogênio/vaca/dia, equivalente a 78,4 g de proteína/vaca/dia.

Segundo o NRC (2001), utiliza-se o método fatorial para se calcular as exigências de proteína, o qual consiste em dividir a exigência protéica animal em exigências de manutenção e produção. As exigências de manutenção consistem do nitrogênio (N) endógeno urinário, N de descamação (pele e pêlos) e N metabólico fecal. As exigências de produção consistem no N necessário para o feto, crescimento e lactação.

O NRC (2001) recomenda que a percentagem de proteína bruta na dieta de vacas leiteiras varie de 16 a 19%, dependendo do peso do animal e da produção de leite, devendo se mais elevada em animais no início da lactação.

Vacas sob pastejo apresentam maiores concentrações de NUS, em virtude do maior consumo de proteína bruta, embora o consumo de altos teores de proteína degradável e/ou baixos teores de carboidratos não-estruturais também possam contribuir para isso (PAYNE e PAYNE, 1987).

Staples *et al.* (1990) observaram aumento de 2,50 mg/dL de NUS para cada quilo adicional de proteína bruta consumida pelo animal. Entretanto, como o coeficiente de determinação foi baixo ($R^2=0,31$), esses pesquisadores chegaram à conclusão de que os valores de NUS não são bons indicadores do consumo de PB, mas, sim, bons indicadores da PB dietética não-aproveitada pelo animal. Portanto, mesmo vacas recebendo dietas com 19% a 21% de PB poderiam ter valores de NUS ou NUL aceitáveis, se o nitrogênio fosse eficientemente utilizado por intermédio de um bom balanço de aminoácidos ou uma boa disponibilidade de energia ruminal (NRC, 2001).

2.5 Variação Forrageira no RS

A produção de forragem e o seu valor nutricional variam em função de características como tipo de solo, altitude, clima e manejo, refletindo-se na diversidade da composição florística das diferentes comunidades vegetais. Por conseguinte, ocasionam diferenças no comportamento ingestivo dos animais e

também durante a fermentação ruminal.

Vazio forrageiro outonal caracteriza-se pela escassez de forragem em quantidade e valor nutritivo, pela maturação das espécies de verão e insuficiência das espécies de inverno. Esse período pode ser reduzido com o escalonamento de semeadura de gramíneas anuais de verão até fevereiro e antecipação da semeadura de cereais de inverno imediatamente após a colheita das culturas de verão. Por meio deste sistema, é possível manter estabilidade produtiva, em quantidade e qualidade, das pastagens anuais e conseqüentemente da produção de ruminantes.

Entre as forrageiras cultivadas de inverno, os grandes destaques, no RS, são a aveia preta (*Avena strigosa*) e o azevém (*Lolium multiflorum*) (MORAES *et al.*, 1995). O azevém destaca-se pela sua facilidade de ressemeadura natural, resistência a doenças, pelo bom potencial de produção de sementes e pela versatilidade em consorciações. A aveia é usada preferencialmente em áreas de integração lavoura-pecuária, pois seu menor ciclo de produção não interfere na época de cultivo de lavouras de verão (LESAMA e MOOJEN, 1999). A consorciação de aveia mais azevém é amplamente utilizada na Região Sul do país, já que a aveia possibilita a antecipação da utilização da pastagem e o azevém prolonga este ciclo (QUADROS e MARASCHIN, 1987).

As culturas de aveia e azevém, como ocorrem com as demais gramíneas anuais, apresentam em sua fase de crescimento vegetativo alta proporção de folhas, baixo teor de fibras e altos teores de proteína e ao passar para o estágio reprodutivo, sofre alterações que reduzem a sua qualidade, que podem determinar queda na digestibilidade e no consumo de forragem pelos animais, quando ocorre elevação da porcentagem dos constituintes da parede celular e sua lignificação. Segundo Floss *et al.* (2003) o declínio da digestibilidade é o resultado de três acontecimentos: redução na proporção dos tecidos mais digestíveis, menor concentração dos constituintes mais digestíveis e maior teor dos constituintes fibrosos.

Quando ocorrem essas mudanças, ocorre um desequilíbrio na dieta dos animais, principalmente quando se trata de bovinos leiteiros, pois o requerimento é muito maior e a capacidade de ingestão de matéria seca (IMS) é a mesma. Isto demonstra que é muito importante ajustar a dieta dos animais a cada ciclo da planta;

assim evita perdas produtivas por excesso de proteína ou até mesmo falta de fibra efetiva na dieta, ou por falta de nutrientes devido a um estágio de maturação maior.

2.6 Nitrogênio uréico e as perdas reprodutivas

O efeito de elevados consumos de proteína bruta sobre o desempenho reprodutivo de vacas em lactação é um assunto controverso, podendo ou não ter efeitos indesejáveis sobre o tempo para aparecimento do estro, dias abertos, taxa de concepção, sobrevivência embrionária e outros. Ferguson e Chalupa (1989), revisando a literatura, demonstraram que o excesso de proteína degradável, em relação às exigências do animal, diminuía a taxa de concepção. Entretanto, estudando os efeitos do excesso de proteína não degradável, também em relação às exigências do animal, demonstraram que a diminuição da taxa de concepção era ainda maior. Postularam, também, que a percentagem de proteína bruta na dieta é um pobre indicador da adequação da nutrição protéica de vacas, explicando que outros fatores, como energia da dieta e produção da vaca, poderiam estar envolvidos na determinação das concentrações de uréia plasmática. Kaim *et al.* (1983), Bruckental *et al.* (1989), Canfield *et al.* (1990), Elrod e Butler (1991) e Larson *et al.* (1997) demonstraram diminuição significativa da taxa de concepção de grupos de vacas que apresentaram concentrações de NUS iguais a 17, 32, 19, 16 e 17 mg/dL, respectivamente.

No entanto Dawuda, *et al.* (2004), ao realizar um estudo com o objetivo de analisar os efeitos da ingestão de nitrogênio degradável rapidamente (NDR) no rúmen, sobre parâmetros metabólicos e reprodutivos em vacas de leite, concluiu que dietas com excesso de NDR, como a uréia, por 27 dias com início 10 dias antes da inseminação não teve efeito sobre os parâmetros reprodutivos ou metabólicos hormonal. Em conclusão, os resultados sugerem que a ingestão de elevado nível de NDR em vacas de alta produção, não teve efeito sobre o desempenho reprodutivo (DAWUDA *et al.* 2004).

De acordo com Pursley (1998), o intervalo entre partos ideal para máxima produtividade é de 12 meses. Quando esse intervalo se estende, além dos 13 meses, perdas econômicas significativas ocorrem. Segundo estimativas, as perdas econômicas, para intervalos entre partos que se estendem além do ideal de 12 meses, variam entre US\$ 3,00 a US\$ 5,50 de perda/vaca/dia, para vacas acima dos

100 dias vazios. Melendez *et al.* (2000) avaliaram a associação entre NUL e risco de não prenhez após a primeira inseminação em um rebanho comercial na Flórida, dois grupos de 515 e 558 vacas foram classificados como de alta (17-25 mg/dL) e de baixa concentração de NUL (6-16 mg/dL) com 30 dias antes da primeira inseminação, um total de 158 (30,6%) e 189 (33,8%) vacas, respectivamente, foi diagnosticado como prenhe. Os pesquisadores demonstraram que vacas com alto NUL, que emprenharam durante o verão, apresentaram 18 vezes mais risco de não-prenhez comparadas às com baixo NUL, que emprenharam durante o inverno.

Rajala e Schultz *et al.* (2001) relataram que vacas com concentrações de NUL abaixo de 10mg/dL foram 2,4 vezes mais prováveis e vacas com NUL entre 10 e 12,7 foram 1,4 vez mais prováveis de estarem prenhes do que vacas com valores de NUL acima de 15,4 mg/dL. Seus resultados indicam que o aumento nas concentrações de NUL parece ser negativamente relacionado com fertilidade em vacas leiteiras. Eles também sugerem que as concentrações de NUL, que são adversamente associadas com fertilidade, podem ser menores que as reportadas anteriormente. Também o número de partos parece afetar o efeito da nutrição protéica sobre a taxa de concepção. Kaim *et al.* (1983) e Bruckental *et al.* (1989) afirmaram que vacas mais velhas (múltiparas) são mais afetadas por desbalanços protéicos, embora Carroll *et al.* (1988) aceitem que vacas de primeira cria (primíparas) sejam as mais suscetíveis.

Várias hipóteses foram propostas para explicar os efeitos do desbalanço protéico sobre o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras (STAPLES *et al.*, 1990). Essas 9 hipóteses podem ser classificadas em dois grandes grupos, ou seja, de efeitos diretos e de indiretos. Quanto aos efeitos diretos, altas concentrações de uréia, amônia ou outro composto nitrogenado desconhecido agiriam sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano, sobre os gametas, sobre os embriões em desenvolvimento ou sobre o sistema imune, prejudicando o processo de fertilização, desenvolvimento embrionário ou implantação do embrião. Os efeitos indiretos do desbalanço protéico seriam efetuados por meio do aprofundamento do balanço energético negativo, seja pelo aumento da produção de leite promovido pela maior disponibilidade de proteína, seja pelo maior gasto com a detoxificação da amônia.

2.7 Poluição ambiental

A produção animal tem sido identificada como uma das principais fontes de poluição ambiental por nitrogênio (THOMANN *et al.*, 1994). Grandes quantidades de nitrogênio são levadas para as fazendas leiteiras pela compra dos alimentos. Muito desse nitrogênio permanece na fazenda, em vez de ser incorporado ao leite e tecido animal. Para prevenir a poluição ambiental e assegurar o uso eficiente dos nutrientes, um plano de manejo deve ser desenvolvido, determinando-se a quantidade de nutrientes entrando, saindo e permanecendo na fazenda (KLAUSNER, 1993).

As vacas leiteiras secretam no leite, em média, 25-35% do nitrogênio que consomem e quase todo o nitrogênio restante é excretado nas fezes e na urina (CHASE, 1994). Van Horn *et al.* (1994) indicaram que a excreção total de nitrogênio nos dejetos pode ser determinada subtraindo-se a quantidade secretada no leite da quantidade consumida. Dessa forma, parte considerável do nitrogênio consumido é excretada juntamente com os dejetos animais, contaminando o ar pela amônia volatilizada e os rios e lençóis freáticos com o nitrato lixiviado (TAMMINGA, 1992).

O nitrogênio consumido em excesso, as quantidades excessivas de proteína degradável no rúmen ou as dietas não adequadamente balanceadas para proteína degradável e não-degradável no rúmen, aminoácidos ou energia podem aumentar a excreção de nitrogênio nas fezes ou urina. À medida que a produção de leite aumenta, a excreção de nitrogênio nas fezes e urina por unidade de leite produzido diminui. Jonker *et al.* (2002) demonstraram que a melhoria de 50% na eficiência de utilização do nitrogênio por um rebanho leiteiro pode reduzir a perda de nitrogênio para o ambiente em 40%.

Os alimentos comumente utilizados na dieta de vacas leiteiras apresentam degradabilidade que pode variar entre 20% (farinha de sangue) e 100% (uréia) (NRC, 2001). Portanto, dietas com a mesma percentagem de proteína bruta podem apresentar diferentes degradabilidades ruminais da proteína. O NRC (2001) recomenda que a degradabilidade da proteína na dieta seja entre 63% e 66%, dependendo da produção e da fase de lactação da vaca.

A exigência em proteína metabolizável, em termos relativos, é decrescente à medida que o animal cresce. A alta exigência em PM de bezerros jovens, normalmente limita a utilização de uréia nas rações, uma vez que para se suprir toda

sua exigência em PM, a dose de farelo de soja ou de algodão é alta e normalmente resulta em excesso de PDR na ração. Segundo o NRC (2001), as fontes de nitrogênio protéico podem ser classificadas em fontes ricas, intermediárias e pobres em PDR e PNDR; de modo geral grãos de soja, farelo de soja, farelo de amendoim, farelo de girassol, farelo de canola e farelo de glúten – 21 (refinasil ou promil) são exemplos de fontes ricas em PDR, farelo de algodão é uma fonte intermediária, farinha de peixe, farinha de carne e ossos, farinha de pena, farinha de sangue, farelo de glúten de milho 60 (protenose e glutenose) grãos de destilados, resíduo de cervejaria, farelo de soja tratado a altas temperaturas, farelos de soja tratados quimicamente e grãos de soja tostado são exemplos de fontes de PNDR.

Conforme Santos (2006), ao se formular ração para bovinos, em termos de adequação protéica, deve-se ter por objetivo suprir quantidades adequadas de PDR para maximizar a síntese microbiana e então complementá-la com PNDR, para suprir as exigências do bovino em proteína metabolizável. Além disso, para que a resposta seja maximizada, é importante que a fonte de PNDR seja de alta qualidade para que o perfil de aminoácidos essenciais da PM seja adequado (SANTOS, 2006).

2.8 Poluição do ar

As emissões de amônia são um importante tema em muitos países com produção animal, uma vez que contribui para problemas ambientais e de saúde. Estratégias e medidas para reduzir a emissão de amônia estão recebendo uma atenção crescente na legislação nacional e internacional.

Miragliotta (2005) expõe que, em muitos países, o limite de concentração de amônia para trabalho de 8 h/dia é de 25 ppm e para curtos períodos de exposição, este nível aumenta para 35 ppm. Na Suécia, o nível máximo para permanência do trabalhador, é de 10 ppm. No Brasil, a legislação permite a concentração máxima de 20 ppm no ar, dentro da indústria durante o turno de 8 h/dia de trabalho.

Külling *et al.* (2001), ao testar diferentes concentrações de proteína na dieta de vacas leiteiras e diferentes sistemas de manejos dos dejetos. Concluiu que quanto maior a concentração de proteína na dieta maior a concentração de gases como amônia e nitritos e animais mantidos em cama sobreposta apresentaram maior relação C:N, sendo a produção de gases como amônia e metano menor do que do chorume, sendo a produção de nitritos semelhante KÜLLING *et al.* (2001).

3 MANUSCRITO

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de manuscrito, com sua formatação de acordo com as orientações da revista ao qual foi submetido:

Nitrogênio uréico no leite de vacas mantidas em pastagens de aveia e azevém

Diego Zeni, Émerson Soares, Daniel kanheski Moreira, Carlos Bondan e Marcelo Cecim

De acordo com as normas para publicação em:

Ciência Rural

Nitrogênio uréico no leite de vacas mantidas em pastagens de aveia e azevém

Milk urea nitrogen from cows foraging winter oats and ryegrass annual pasture

Diego Zeni^{I*}, Émerson Soares^I, Daniel kanheski Moreira^I, Carlos Bondan^{II} e Marcelo Cecim^{III}

Resumo – A utilização de alimentos com proteína de alta degradabilidade acompanhados de baixos níveis de carboidratos não estruturais, pode levar a um aumento do nitrogênio uréico no leite. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar se existe elevação do NUL de vacas mantidas em pastagens de aveia e azevém e que recebem rações comerciais com elevado teor de proteína. Foram coletadas amostras de leite de 598 vacas de 11 rebanhos, além da produção, dieta e os alimentos para análise bromatológica. Foi realizado, a determinação das concentrações de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, CCS e o NUL. O NUL relacionou-se com o aumento da concentração de proteína ingerida, e com a diminuição da energia total e isto é demonstrado pela equação $NUL=0.87 + 7.2PI - 0.31ET$ e $P<0,001$. Ao analisar a distribuição dos rebanhos por produção (Prod.<15 litros, Grupo 1; Prod entre 15 e 25 litros Grupo 2; e prod > que 25 litros, grupo 3), pode-se observar que estes diferiram estatisticamente quanto à proteína ingerida e a energia ingerida, mas quanto ao NUL, não existiu diferença entre os animais que produzem mais de 15 litros/dia. Ao analisar a produção média do rebanho, com a PI e a ET, para avaliar o NUL, formou-se a equação, $NUL= 3.39 + 5.68PI - 0.62 ET + 0.43 Prod$ e $P<0,001$. Pode-se concluir que no RS na primavera existem vacas que apresentam elevado NUL, principalmente em rebanhos que apresentam maiores médias de produção.

Termos para indexação: NUL, energia, proteína, excesso.

Abstract – Milk urea nitrogen (MUN) is derived from protein metabolism as well as ammonia formed with the rumen. The objective of the present paper evaluate a possible protein excess in the diet of dairy herds through Mun levels. A total of 598 animals from 11 different herds were sampled. Also, feed consumed was sampled for analyses and individual cow production recorded. In milk samples, fat, protein, lactose, total solids, somatic cell count and MUN were measured. MUN was related positively related to total protein consumption and negatively related to total energy, which is demonstrated by the equation $NUL=0.87 + 7.2PI - 0.31ET$ and $P<0,001$. When the herds are blocked by production (Group 1 < 15 L; Group 2 between 15 and 25 L; and Group 3 > 25 L) there is a difference in protein and energy consumption, however, NUL was not different between groups 2 and 3. When production is considered, the correlation yields the equation $NUL=3.39 + 5.68PI - 0.62 ET + 0.43 Prod$ and $P<0,0001$. Based on the results it is concluded that in RS state, NUL is elevated during winter months, principally in higher producing herds.

Index terms: MUN, protein energy intake, protein excess.

Introdução

A utilização de alimentos com proteína de alta degradabilidade acompanhados de baixos níveis de carboidratos não estruturais, pode levar a um aumento do nitrogênio uréico no leite. A produção sustentável de leite no Rio Grande do Sul utiliza entre os meses de junho e novembro, na maioria das propriedades, pastagens de excelente qualidade que são compostas de aveia preta (*Avena strigosa*) e azevém (*Lolium Multiflorum*) onde em determinadas épocas chegam a ter 20% de proteína bruta (PB) em sua composição. Como os ruminantes dependem dos microorganismos ruminais para atingir suas exigências de proteína e energia, estes dependem da composição da dieta para suprir essa necessidade.

O crescimento microbiano é afetado pela disponibilidade de nutrientes exigidos pelos microrganismos ruminais, como carboidratos, amônia, peptídeos, aminoácidos, enxofre e ácidos graxos de cadeia ramificada (Van SOEST, 1994). Existem produtores que alimentam seus animais sem considerar o requerimento diário e acabam pecando por excesso ou por falta de nutrientes. Devido, principalmente, aos altos custos de suplementos protéicos para vacas leiteiras e à possibilidade de comprometimentos reprodutivos, há crescente interesse em minimizar perdas de compostos nitrogenados e, nas condições brasileiras, em reduzir os custos de produção, por meio do melhor aproveitamento dos compostos nitrogenados fornecidos na dieta (SANTOS, 2006).

O balanceamento entre o suprimento de nitrogênio (N) e energia para os microrganismos ruminais tem sido proposto como mecanismo para melhorar a captura do nitrogênio degradado no rúmen e aumentar o crescimento microbiano. Em períodos de excesso de nitrogênio, a amônia é absorvida no epitélio ruminal e, uma vez na circulação portal, é convertida em uréia no fígado (Van SOEST, 1994).

O uso de fontes de carboidratos de alta degradabilidade ruminal pode favorecer menor teor de nitrogênio uréico no leite, em razão da menor perda de N-amoniacal pelo rúmen e do melhor perfil dos aminoácidos essenciais na proteína metabolizável, decorrente da maior participação da proteína microbiana (THEURER et al., 1999).

A concentração de nitrogênio uréico no leite (NUL) apresenta alta correlação com a concentração de nitrogênio uréico no plasma ou no sangue ($r = 0,88$; ROSELER et al., 1993), pois a uréia é uma molécula que se difunde facilmente pelas membranas (JONKER et al., 1998). Desse modo, a concentração de NUL tem sido utilizada como indicador para o monitoramento da proteína degradável ruminal (JONKER et al., 1999; KOHN, 2000), principalmente pela adequação da relação entre proteína e energia da dieta para vacas em lactação (OLTNER & WIKTORSSON, 1983; OLTNER et al., 1985; BRODERICK &

CLAYTON, 1997).

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. Entretanto, quando os níveis de nitrogênio uréico sanguíneo (NUS), plasmático (NUP) ou no leite (NUL) estão acima de 19 mg/dl há uma tendência de queda nas taxas de concepção (BUTLER et al., 1996; FERGUSON et al., 1997). As vacas leiteiras secretam no leite, em média, 25-35% do nitrogênio que consomem e quase todo o nitrogênio restante é excretado nas fezes e na urina (CHASE, 1994). JONKER et al. (2002) demonstraram que a melhoria de 50% na eficiência de utilização do nitrogênio por um rebanho leiteiro pode reduzir a perda de nitrogênio para o ambiente em 40%.

A utilização de pastagens de aveia e azevém associada á utilização de rações comerciais com elevado teor de PB, aumentaria as concentrações de PDR, a qual elevaria a quantidade de NH₃ no rúmen. O objetivo deste trabalho foi investigar se existe aumento do NUL nesse período.

Material e Métodos

Foram coletadas amostras de leite de 598 animais, das raças holandês e jersey, provenientes de 11 rebanhos comerciais em propriedades localizadas na região central e noroeste do Rio Grande do Sul. Utilizaram-se vacas com até cinco lactações e até 305 dias em lactação. Dados da produção de leite (kg/dia) e da dieta consumida foram coletados no dia da amostragem do leite, assim como amostras dos alimentos das dietas para análise bromatológica. As amostras de leite foram coletadas em alíquota única, sempre na ordenha da manhã e transferidas diretamente do medidor para frascos de coleta (60 mL), contendo duas pastilhas de bronopol como conservante. Em seguida, foram homogeneizadas por, no mínimo, 15 segundos e encaminhadas para determinação das concentrações de gordura, proteína,

lactose, sólidos totais (ST) (%), da contagem de células somáticas (CCS) ($\times 10^3$ células/mL) e o NUL (mg/dL). As concentrações de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram determinadas por leitura de absorção infravermelha, utilizando-se o equipamento Bentley 2000® e a CCS foi realizada pelo método de citometria fluxométrica, utilizando-se equipamento Somacount 300®. As concentrações de NUL foram determinadas conforme CORADINI et al. (2004), com a amostra refrigerada por 4 horas em temperatura de 4 a 6°C, para, após, ser centrifugada a 8000 rpm por 8 minutos; em seguida foi retirado o anel de gordura em suspensão e pipetava-se 8ml de leite e 600µl de ácido tricloroacético (TCA) a 15% e centrifugava-se nas mesmas condições. Após as amostras eram armazenadas em ependorff de 2ml a -20°C.

O NUL foi analisado com o Kit comercial Uréia 500 (Doles), em espectrofotômetro CELM E -225 D. As dietas das propriedades foram avaliadas com auxílio do software Spartan REB, versão 2.0 (MSU, 1992). A composição bromatológica das dietas utilizadas em cada propriedade encontra-se no (Quadro 1).

Para analisar a silagem, foi utilizado um potenciômetro digital para determinação do pH. A extração do suco da silagem foi realizada com auxílio de prensa de Carver, para a determinação do nitrogênio amoniacal (N- NH_3), através de destilação com óxido de magnésio. As determinações de matéria seca (MS) foram feitas em estufa a 55°C/72h, que, posteriormente, foi moída em moinho tipo “Wiley” em peneira com malha de 1mm. As cinzas (Cz) foram queimadas em mufla a 550°C/5h, extrato etéreo (EE) em aparelho Soxhlet com éter de petróleo, e proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldahl ($\text{N} \times 6,25$). Os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente ácido corrigida para cinzas (FDAc) e fibra em detergente neutro corrigida para cinzas (FDNc) conforme Van SOEST (1991), com adição de alfa amilase termoestável mas sem uso de sulfito.

Os efeitos das diferentes variáveis independentes no NUL foram analisados utilizando

um modelo de regressão linear, quadrática e cúbica. As propriedades foram divididas em três grupos conforme produção média (Prod.<15 litros, Grupo 1; Prod entre 15 e 25 litros, Grupo 2; e prod > que 25 litros, grupo 3). As variáveis dependentes, proteína ingerida, energia total e NUL foram comparadas nas diferentes classes de produção por análise variância utilizando Modelos Lineares Gerais. A análise entre grupos foi realizada por LSMeans. Todas as análises foram efetuadas utilizando o pacote estatístico JMP software (SAS, Institute, Cary, NC).

Resultados e Discussão

O aumento da concentração de proteína ingerida e a diminuição da energia total levaram a um aumento do NUL e isto é demonstrado pela equação $NUL=0.87 + 7.2PI - 0.31ET$, onde (PI = proteína ingerida e ET = energia total) e o $P < 0001$. Indicando que a proteína ingerida aumenta o NUL, mas pode estar associado à falta de energia na dieta. Isto é explicado pelo não aproveitamento da PDR, pois falta energia para crescimento das bactérias do rúmen para aproveitarem a NH_3^+ e transformarem em proteína microbiana. Confirmando a hipótese de MEYER et al. (2006), uma possível explicação para o aumento nas concentrações de NUL em vacas que consumiam a mesma dieta e, em relação ao aumento na produção de leite, pode ser o fato de que o nutriente limitante para vacas de alta produção é a energia; assim, para obter a ingestão de energia necessária, o animal aumentaria o consumo de MS, ingerindo proteína em excesso, em relação à energia. O efeito quadrático e cúbico das variáveis independentes foi testado e não foi observado um efeito significativo.

Ao analisarmos a distribuição dos rebanhos por produção, pode-se observar na (Figura 2), que estes diferiram estatisticamente quanto à proteína ingerida e à energia ingerida, mas quanto ao NUL, não existiu diferença entre os animais do grupo 2 e 3. Demonstrando que a partir do momento em que o animal produz mais leite, ele acaba ingerindo mais alimento

consequentemente, mais proteína o que leva a um aumento do NUL e isto vai de encontro com ARUNVIPAS et al. (2002) que observaram, a cada aumento de 1 L na produção de leite/vaca/dia, existe um acréscimo de 0,05 mg/dL na concentração de NUL, com média de NUL de 11,17 mg/dL. OLTNER et al. (1985) também notaram correlação positiva entre produção de leite e concentração de uréia no leite. Além disso, leva-nos a crer que o limitante para vacas de alta produção é a disponibilidade de energia, principalmente vinda de carboidratos não estruturais (CNE), pois o excesso de proteína é demonstrado pelo aumento da uréia.

Ao analisarmos o NUL com a produção média de leite das propriedades mais a PI e a ET, formou-se a seguinte equação, $NUL = 3.39 + 5.68PI - 0.62 ET + 0.43 Prod$, $R^2 = 0,20$ e $P < 0,001$. Os dados estão distribuídos no gráfico (Figura 1), podendo-se observar também o NUL real e o NUL previsto distribuídos no gráfico, conforme a equação citada acima. Na (Figura 3), pode-se observar claramente que as maiores concentrações de NUL, estão com os animais de maior produção. Devido às formulações comerciais existentes no mercado, fica difícil de fornecer energia através da ração, pois, geralmente, existe aumento no fornecimento de proteína. Sugere-se que, para se diluir a proteína da dieta, deve-se fornecer CNE, principalmente aqueles que apresentam maior quantidade de açúcar solúvel ou fontes amiláceas. Assim, consegue-se melhorar o aproveitamento do nitrogênio vindo da forragem, diminuindo as perdas produtivas e diluindo os custos de produção.

Os fatores que podem afetar o aporte de aminoácidos para o intestino delgado estão relacionados com a velocidade e intensidade de degradação da proteína dietética no rúmen, a disponibilidade de carboidratos, também pode afetar a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados, pelo fato de ser responsável pelo aporte de energia (CAVALCANTE et al., 2006).

O NUL aumentado em alguns rebanhos, está relacionado com alta quantidade de

proteína na dieta dos animais, pois fica implícito que, pastagens que apresentam alta proteína em sua composição, deve-se diminuir a quantidade de proteína do concentrado. PEREIRA et al. (2009), concluiu que vacas comendo capim-elefante com composição média de 13,9% PB e recebendo diferentes concentrações de PB na ração, ficou indicado o concentrado com 15,2% PB, não tendo necessidade de quantidades superiores de PB para produção média de 20 litros/dia.

KAUFMANN (1982) encontrou relação similar, a qual foi atribuída aos aumentos no conteúdo de proteína na dieta e na produção de leite, e não somente ao efeito da produção de leite. A associação entre uréia no leite e produção verificada por GODDEN et al. (2001) foi positiva, mas não-linear. Por outro lado, existem autores, como NELSON (1995) que afirma existir relação negativa entre uréia no leite e produção, pois a taxa energética, associada à conversão de quantidades excessivas de amônia em uréia, pode contribuir para diminuir a energia disponível para produção de leite. E isto é possível, principalmente, se a concentração de uréia for muito elevada, e a energia total da dieta for baixa.

HUHTANEN & HRISTOV (2009) em um estudo de meta análise confirmaram que não superalimentar com proteína é uma importante ferramenta para reduzir as perdas de nitrogênio. A degradabilidade ruminal da proteína da dieta como predita pelo NRC (2001), não parecem como um importante fator para produção da proteína do leite e a eficiência do N na produção de leite. Dados indicam que o aumento da produção de leite aumentaria a eficiência de N da dieta vinda da proteína bruta sem aumento, mas o efeito é considerado pequeno, se comparado a redução da proteína da dieta. Segundo COLMENERO & BRODERICK (2006), a utilização de dietas com 16.5% de PB na dieta é suficiente para máxima produção de leite e proteína e mínima excreção de nitrogênio no ambiente.

Conclusão

Pode-se concluir que no RS na primavera existem vacas que apresentam elevado NUL, principalmente em rebanhos que apresentam maiores médias de produção.

Referências

- ARUNVIPAS, P. et al. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in Ayrshire dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaing,III, US, v. 85, p 320, 2002. Suppl. 1.
- BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentration of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaing,III, US, v. 80, p. 2964-2971, 1997.
- BUTLER, W. R. et al. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill, US, v. 74, p. 858-865, 1996.
- CAVALCANTE, M. A. B. et al. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 203-210, 2006.
- CHASE, L. F. Enviromental considerations in developing dairy rations. In: THE CORNELL NUTRITION CONFERENCE, ROCHESTER, 1994, Ithaca. **Proceedings**. Ithaca: Cornell University Press. 1994. p. 56-62.
- COLMENERO, J. J. O.; BRODERICK, G. A. Effect of Dietary Crude Protein Concentration on Milk Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 89, p. 1704-1712, 2006.
- CORADINI, M. T. et al. Método alternativo para determinação de uréia no leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DE LEITE, 2004, Passo Fundo, **Anais...** Passo Fundo, 2004. 1 CD-ROM.
- FERGUSON, J. D. et al. W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 80, n. 1, p. 161, 1997.
- GODDEN, S. M. et al. Factors associated with milk urea concentrations in Ontario dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 84, p. 107-114, 2001.
- HUHTANEN, P.; HRISTOV, A. N. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 92, n. 7. 2009. doi: 10.3168/jds.2008-1352.
- JONKER, J. S. et al. Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 85, n. 5, p. 1218-1226, 2002.
- JONKER, J. S. et al. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed

according to National Research Council recommendations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 82, p. 1261-1273, 1999.

JONKER, J. S. et al. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 81, p. 2681-2692, 1998.

KAUFMANN, W. Variation in composition of the raw material with special regard to the urea content. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 37, p. 6-9, 1982.

KOHN, R. A. Caution needed when interpreting MUN. **Hoard's Dairyman**, Fort Atkinson, US, v. 145, p. 58, 2000.

MEYER, P. M. et al. Fatores não – nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 1114-1121, 2006.

MSU Software Spartan. (S. L.). Cooperative Extension Service, 1992. Animal Science Department of Michigan State University. 1992.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D.C.: National Academy Press. 2001. 381p.

NELSON, A. J. Practical application of MUN analysis. In: ANNUAL NORTH EAST DAIRY PRODUCTION AND MEDICINE SYMPOSIUM, Syracuse. 1995. **Proceedings...** Syracuse: Cornell University Press. 1995. p. 35-45.

OLTNER, R. et al. Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 12, p. 47-57, 1985.

PEREIRA, F. R. et al. Teores de proteína para vacas lactantes em pastejo de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 5, p. 1139-1147, 2009.

ROSELER, D. K. et al. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 76, p. 525-534, 1993.

SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In:____. **Nutrição de ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal : Funep, 2006. cap. 9, p. 255–286.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT. User's guide**: statistics, Version 8.02. Cary, 2001. V.1, 890p. V.2, 1686p.

THEURER, C. B. et al. Steam-processed corn and sorghum grain flaked at different densities alter ruminal, small intestinal, and total tract digestibility of starch by steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill, US, v. 77, p. 2824-2831, 1999.

Van SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Constock Publishing Associates. 1994. 476 p.

Van SOEST, P. J. et al. Symposium: methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill, US, v. 74. p. 3583-3597, 1991.

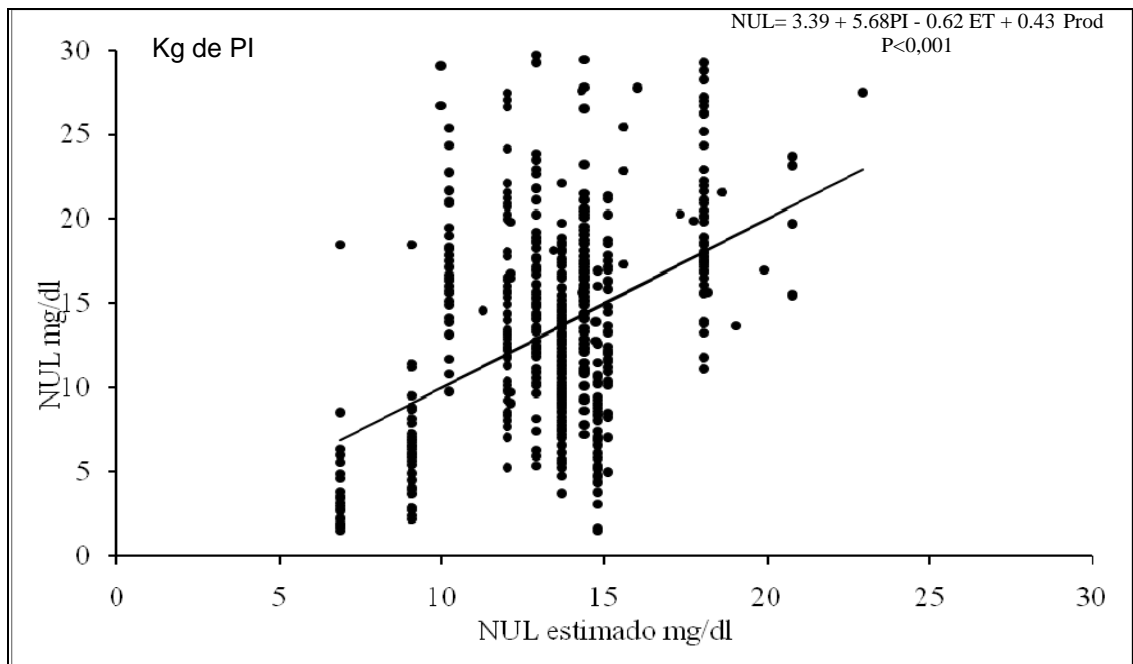
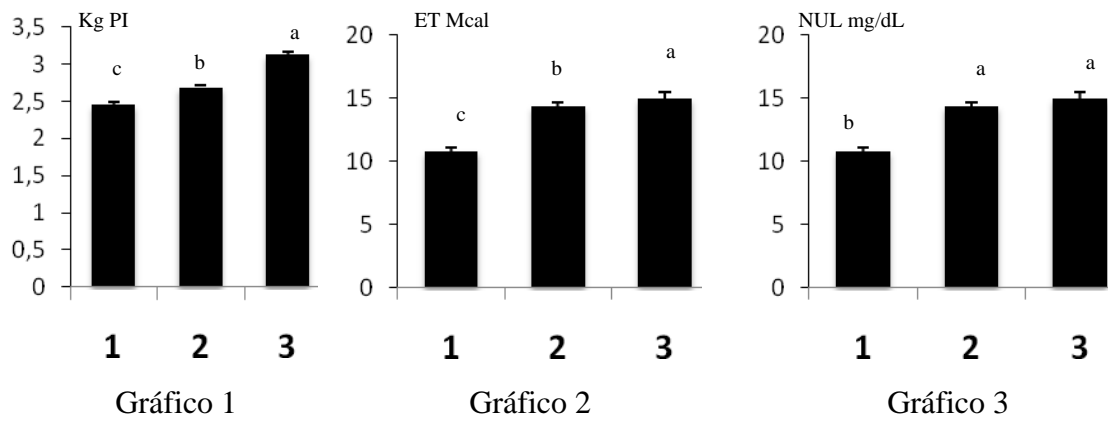


Figura 1. Distribuição dos animais, conforme NUL real e estimado usando proteína ingerida (PI), energia total (ET) e produção média de leite (Prod).

Tabela 1. Composição da dieta das propriedades (ração total misturada).

Rebanho	MS kg	Energia Mcal/Kg	PB %	NDT %	FDA %	FDN %	EE %	Cinza
1	18,5	1,61	17,6	71,0	14,5	30,0	5,0	5,0
2	16	1,48	16,0	68,0	21,0	33,0	4,0	7,4
3	17,2	1,50	15,4	68,3	21,5	34,6	3,7	5,7
4	17	1,50	13,2	66,7	23,0	36,0	3,0	4,7
5	19	1,52	16,7	72,0	19,3	34,9	3,2	7,2
6	11	1,50	15,0	70,0	21,0	33,0	4,0	6,0
7	15	1,51	17,4	66,0	16,0	25,0	2,9	9,6
8	15	1,58	18,2	48,0	16,4	30,0	3,1	4,9
9	16	1,50	18,9	69,3	24,1	42,5	3,3	8,9
10	22	1,70	16,8	74,0	17,8	33,5	5,0	7,5
11	11	1,48	23,0	69,0	24,0	25,0	3,0	11,0

Onde: MS kg= Consumo de matéria seca (estimado), Energia Mcal/kg= Energia por kg de matéria seca, PB= Proteína bruta, NDT= nutrientes digestíveis totais, FDA= fibra em detergente ácido, FDN= fibra em detergente neutro, EE= extrato etéreo, Cinza=% de cinza na dieta.



Onde: 1 animais produzindo <15 litros, 2 animais produzindo entre 15 e 25 litros e 3 animais produzindo > de 25 litros.

Figura 2. Gráficos representando análise dos rebanhos por produção média de leite, quanto a proteína ingerida (PI) Gráfico (1), energia total consumida (ET) gráfico (2) e NUL gráfico (3).

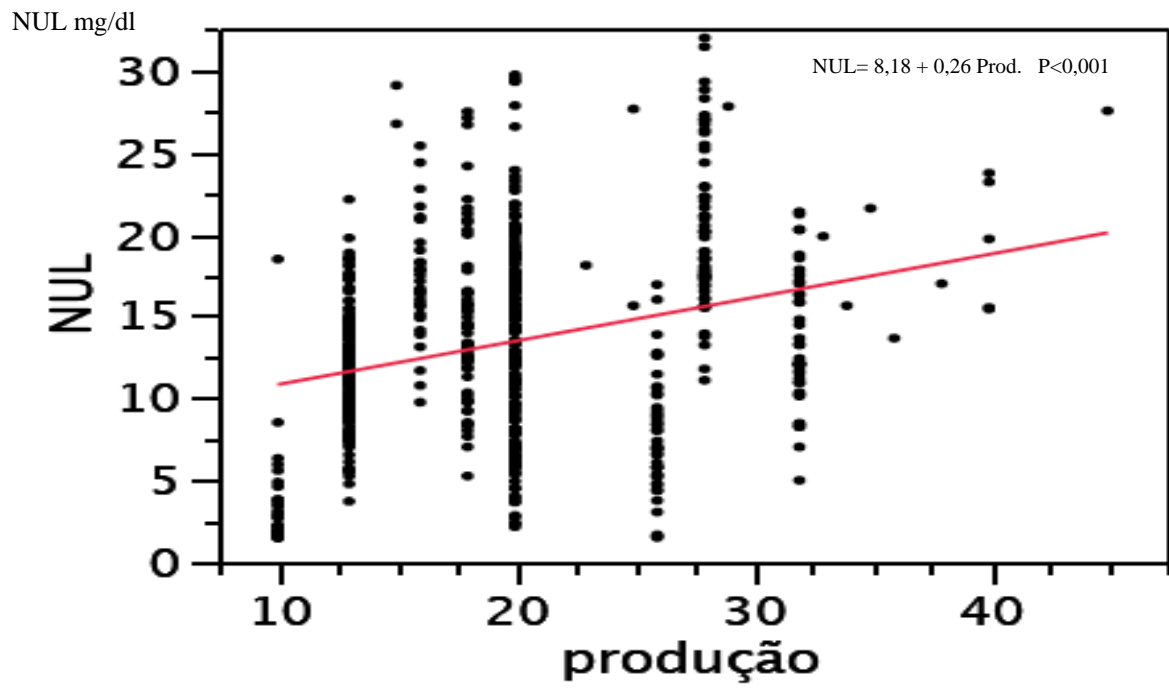


Figura 3. Gráfico demonstrando a distribuição da análise de regressão do NUL com a produção.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que a produção de leite em cima de pastagens de aveia e azevém é uma prática muito eficiente. Devido á dificuldade de se alimentar os animais com proporções adequadas, fica implícito que análise bromatológica e ajuste da dieta são de fundamental importância, mas devem estar associados a uma análise dos componentes sólidos do leite e do NUL, facilitando, assim, a tomada de decisões dentro do manejo de cada propriedade. Animais que consomem mais MS e produzem mais leite, apresentaram maior quantidade de NUL, e isso pode ser observado neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARUNVIPAS, P. et al. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in Ayrshire dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 85, p. 320, 2002. Supl. 1.

BLAXTER, K. L. **The energy metabolism of ruminants**. London: Hutchinson, 1962. 392 p.

BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentration of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 80, p. 2964-2971, 1997.

BRUCKENTAL, I. et al. Glucose and urea kinetics in early lactation. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 44, p. 33-45, 1980.

_____ et al. Effects of source and level of protein on milk yield and reproductive performance of high-producing primiparous and multiparous dairy cows. **Animal Production**, Bletchley, Inglaterra, v. 48, p. 319-329, 1989.

BUTLER, W. R. et al. Milk urea nitrogen: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: THE CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 1995, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University Press, 1995. p. 89-94.

_____ et al. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, US, v. 74, p. 858-865, 1996.

CANFIELD, R. W. et al. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and nenergy balance in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 73, p. 2342-2349, 1990.

CANNAS, A.; PES, A. et al. Effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 81, n. 2, p. 499-508, 1998.

CARLSSON, J. et al. Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation and herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow's milk. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 36, p. 245-254, 1995.

_____; BERGSTRÖM, J. The diurnal variation of urea in cow's milk and how milk fat content, storage and preservation affects analysis by a flow injection technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 35, p. 67-77, 1994.

_____; PEHRSON, B. The relationships between seasonal variations in the concentration of urea in bulk milk and the production and fertility of dairy herds. **Journal of Veterinary Medical Association**, Schaumburg, US, v. 40, p. 205-212, 1993.

CARROL, D. J. et al. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 71, n. 12, p. 3470-3481, 1998.

CAVALCANTE, M. A. B. et al. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 203-210, 2006.

CHASE, L. F. Environmental considerations in developing dairy rations. In: THE CORNELL NUTRITION CONFERENCE, ROCHESTER, 1994, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University Press. 1994. p. 56-62.

COLDEBELLA, A. et al. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 623-634, 2004.

COLMENERO, J. J. O.; BRODERICK, G. A. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 89, p. 1704-1712, 2006.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL - CNA. Balança comercial de lácteos. [Brasília], 2006. Disponível em: <www.cna.org/cna/publicacao/sumario> Acesso em: 12 jan. 2010.

COOPER, A. J. L. Ammonia metabolism in normal and portacaval shunted rats. 1990. In: DIMSKI, D. S. Ammonia metabolism and the urea cycle: function and clinical implications. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, Kan., US v. 8, p. 73-78, 1994.

CORADINI, M. T. et al. Método alternativo para determinação de uréia no leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DE LEITE, 2004, Passo Fundo, **Anais...** Passo Fundo: [s.n.], 2004. 1 CD-ROM.

DAWUDA, et al. The effect of a diet containing excess quickly degradable nitrogen (QDN) on reproductive and metabolic hormonal profiles of lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.81, p.195–208, 2004.

DIJKSTRA, J. et al. Different mathematical approaches to estimating microbial protein supply in ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 81, n. 12, p. 3370-3384, 1998.

DODGSON, S. J.; FORSTER, R. E. Carbonic anhydrase: inhibition results in decreased urea production by hepatocytes. **Journal of Applied Physiology**,

Bethesda, Md, US, v. 60, p. 646-652, 1986.

EDWARDS, J. S. et al. Effects of dietary protein concentrations on lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 63, p. 243-253, 1980.

ELROD, C. C.; BUTLER, W. R. Nutrition and reproduction relationships in dairy cattle. In: THE CORNELL NUTRITION CONFERENCE, Ithaca, 1991. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University Press, 1991. p. 73.

EMANUELSON, M. et al. Long term feeding of rapeseed meal and full-fat rapeseed of double low cultivars to dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 33, p. 199-214, 1993.

ENJALBERT, F. Assessment of nutritional adequacy in dairy cows through diet characteristics and animal responses. In : WORLD BUIATRICS CONGRESS, 24., 2006, Nice, France. **Proceedings...** France: [s.n.], 2006. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/toc.asp>> Acesso em: 09 jan. 2010.

FERGUSON, J. D. et al. W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 80, n. 1, p. 161, 1997.

_____; CHALUPA, W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 72, n. 3, p. 746-766, 1989.

FLOSS, E. L. et al. Efeito do estágio de maturação sobre o rendimento e valor nutritivo da aveia branca no momento da ensilagem. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 60, p. 117-126, 2003.

FOLMAN, Y. et al. Performance, rumen and blood metabolites in high-yielding cows fed varying protein percents and protected soybean. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 64, n. 5, p. 759-768, 1981.

GODDEN, S. M. et al. Factors associated with milk urea concentrations in Ontario dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 84, p. 107-114, 2001.

GUSTAFSSON, A. H. et al. **Milk urea level, its variations and how it is affected by herd, milk yield, stage of lactation season, and feeding: a field study.** Uppsala: Swedish University of agricultural Sciences, Department of Animal Nutrition and management, 1987. 31p.

_____; 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**, Champaign, US, v. 76, p. 475-484, 1993.

GUYTON, A. C. **Human physiology and mechanisms of disease.** 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1982. p. 247-292.

HALIBURTON, J. C.; MORGAN, S. E. Nonproyein nitrogen-induced ammonia toxicosis and ammoniated feed toxicity syndrome. **The Veterinary Clinics of North**

America Food Animal Practice, Philadelphia, US, v. 5, p. 237-249, 1989.

HARESIGN, W. **Recent developments in ruminant nutrition**. London: Butterworths, 1988. 407 p.

HAUSSINGER, D. Nitrogen metabolism in liver: structural and functional organization and physiological relevance. **Canadian Journal Biochemistry**, Ottawa, v. 267, p. 281-290, 1990.

HOGAN, J. P. Protein and amino acids nutrition in the high producing cow. Quantitative aspects of nitrogen utilization by ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 58, p. 1164, 1998.

HOWARD, H. J. et al. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 70, n. 8, p. 1563-1571, 1987.

HUBER, J. T.; KUNG JR. L. Protein and nonprotein nitrogen utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 64, n. 6, p. 1170-1195, 1981.

HUHTANEN, P.; HRISTOV, A. N. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 92, n. 7, 2009.

HUNTINGTON, G. B.; ARCHIBEQUE, S. L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. **Animal Science journal**, Tokyo, p. 1-11, 1999.

JONKER, J. S. et al. Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 85, n. 5, p. 1218-1226, 2002.

_____ et al. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 82, p. 1261-1273, 1999.

_____ et al. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 81, p. 2681-2692, 1998.

KANEKO, J. J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. London: Academic, 1997. 932 p.

KAUFMANN, W. Variation in composition of the raw material with special regard to the urea content. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 37, p. 6-9, 1982.

KLAUSNER, S. D. mass nutrient balances on dairy farms. In: THE CORNELL NUTRITION CONFERENCE, Rochestes, 1993. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University Press, 1993. p. 126-129.

KOHN, R. A. Caution needed when interpreting MUN. **Hoard's Dairyman**, Fort Atkinson, US, v. 145, p. 58, 2000.

KÚLLIG, D. R. Emissions of ammonia, nitrous oxide and methane from different types of dairy manure during storage as affected by dietary protein content. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 137, p. 235-250, 2001.

LARSON, S. F. et al. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increase milk urea nitrogen in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 80, n. 7, p. 1288-1295, 1997.

LESAMA, M. F.; MOOJEN, E. L. Produção animal em gramíneas de estação fria com fertilização nitrogenada ou associadas com leguminosa, com ou sem fertilização nitrogenada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 123-128, 1999.

MARSH, W. H. et al. Automated and manual direct methods for the determination of blood urea. **Clinical Chemistry**, Baltimore, US, v. 11, p. 1642, 1965.

MAZZAFERRO, E. et al. Role of glutamine in health and disease. **Compendium**, v. 22, 2000. p. 1094-1103.

MELLENDEZ, P. et al. Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 83, n. 3, p. 459-463, 2000.

METZLER, David E. **Biochemistry**: the chemical reactions of living cells. 2. ed. [S.l.]: Elsevier Academic Press, 2001. v. 1-2.

MEYER, P. M. et al. Fatores não – nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 1114-1121, 2006.

MIRAGLIOTTA, M. Y. et al. Qualidade do ar de dois sistemas produtivos de frangos de corte com ventilação e densidade diferenciadas – estudo de caso. **Revista de Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2002.

MOLLER, S. et al. Pasture rotein and soluble carbohydrate levels in spring dairy pasture and associations with cow performance. **Proceedings of the New zeland Society of Animal Production**, Hamilton, v. 54, p. 83-86, 1993.

MOORE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium**, Detroit, v. 18, p. 712-720, 1996.

MORAES, A. et al. Pastagem nos ecossistemas de clima subtropical: Pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: SIMPÓSIO SOBRE PASTAGEM NOS ECOSISTEMAS BRASILEIROS, Brasília, 1995. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1995. p. 147-200.

MORAES, A.; LUSTOSA, S. B. C. Forrageiras de inverno como alternativas na alimentação animal em períodos críticos. In: PEIXOTO, A. M. **Alimentação**

suplementar. Piracicaba: FEALQ. 1999. p. 147-166.

MSU Software Spartan. Cooperative Extension Service. [Michigan]: Animal Science Department of Michigan State University, 1992.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 6. ed. Washington, DC: National Academy Press, 1989. 381 p.

_____. _____. 7. ed. Washington: National Academy Press. 2001. 408 p.

NELSON, A. J. Practical application of MUN analysis. In: ANNUAL NORTH EAST DAIRY PRODUCTION AND MEDICINE SYMPOSIUM, Syracuse, 1995. **Proceedings...** Syracuse: Cornell University Press, 1995. p. 35-45.

NOVO, A. L. M.; CAMARGO, A. C. Alternativas inovadoras para otimizar a transferência de tecnologia para a agricultura familiar. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005, p.57-67.

OLTNER, R.; EMANUELSON, M.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 12, p. 47-57, 1985.

_____; WIKTORSSON, H. Urea concentrations of milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 10, p. 457-467, 1983.

PAYNE, J. A.; PAYNE, S. **The metabolic profile test.** New York: Oxford University Press. 1987. 179 p.

PEREIRA, F. R. et al. Teores de proteína para vacas lactantes em pastejo de capim-elfante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 5, p. 1139-1147, 2009.

PURSLEY, R. Economics benefits of synchronization strategies. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, Uberlândia, 1998. **Anais.** Uberlândia: Conapec Jr., 1998. p. 21-22.

QUADROS, L. F. F.; MARASCHIN, G. E. Desempenho animal em misturas de espécies de estação fria. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 5, p. 535-541, 1987.

RAJALA-SCHULTZ, P. J. et al. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 84, n. 2, p. 482-489, 2001.

ROSELER, D. K. et al. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**,

Champaign, US, v. 76, p. 525-534, 1993.

SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In:____. **Nutrição de ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal : Funep, 2006. cap. 9, p. 255–286.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos - métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: UFV. 2002. 235 p.

STAPLES, C. R. et al. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 73, n. 4, p. 938-947, 1990.

SWENSON, M. J. et al. **Duke's physiology of domestic animals**. 11. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1993. p. 573-604. Water balance and excretion.

TAMMINGA, S. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 75, p. 345-357, 1992.

THEURER, C. B. et al. Steam-processed corn and sorghum grain flaked at different densities alter ruminal, small intestinal, and total tract digestibility of starch by steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, US, v. 77, p. 2824-2831, 1999.

THOMANN, R. V. et al. **Response of the Chesapeake bay water quality model to loading scenarios**. Washington: Environmental protection Agency, 1974. 74 p.

Van SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Constock Publishing Associates. 1994. 476 p.

Van SOEST, P. J. et al. Symposium: methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, US, v. 74. p. 3583-3597, 1991.

WISEK, W. J. Ammonia metabolism, urea cycle capacity and their biochemical assessment. **Journal of Animal Science**, Champaign, US, v. 37, p. 273-282, 1979.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. **Investigations on the amount and composition of NPN in milk**. 1981. 121 p. Thesis (PhD) – University of Munich, 1981.