

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
Colegiado dos cursos de Pós-graduação

**Substituição de farelo de soja por proteína de leveduras na dieta de vacas  
em lactação manejadas em pastejo rotacionado**

Henrique Pinho de Freitas

Belo Horizonte MG  
Escola de Veterinária da UFMG  
2014

Henrique Pinho de Freitas

**Substituição de farelo de soja por proteína de leveduras na dieta de vacas em lactação manejadas em pastejo rotacionado**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Ronaldo Braga Reis

**Belo Horizonte**  
**Escola de Veterinária – UFMG**  
**2014**

## Sumário

Lista de tabelas.....	4
Lista de figuras.....	5
Resumo.....	6
Introdução.....	8
2.0. Revisão de literatura.....	9
2.1. Manejo intensivo de pastagens tropicais.....	9
2.2. Valor nutricional da planta forrageira tropical.....	10
2.3. Mecanismos de degradação da proteína no rúmen.....	13
2.4. Cinética de degradação da proteína no rúmen.....	15
2.5. Proteína degradável no rúmen.....	18
2.6. Proteína não degradável no rúmen.....	19
2.7. Proteína na dieta de vacas em lactação.....	23
3.0. Material e métodos.....	25
3.1. Local, período e fatores climáticos.....	25
3.2. Animais, tratamentos e delineamento experimental.....	26
3.3. Manejo da pastagem.....	26
3.4. Dietas e manejo dos animais.....	27
3.5. Avaliação da produção e composição do leite.....	28
3.6. Determinação do consumo de pastagem e digestibilidade aparente.....	30
3.7. Determinação dos derivados de purina e creatinina.....	31
3.8. Determinação do balanço de nitrogênio.....	31
3.9. Determinação dos metabolitos sanguíneos.....	32
3.10. Análise estatística.....	32
4.0. Resultados e discussão.....	33
4.1. Disponibilidade e composição da forragem.....	33
4.2. Consumo e digestibilidade aparente.....	36
4.3. Produção e composição do leite.....	38
4.4. Derivados de purina e balanço de nitrogênio.....	42
4.5. Parâmetros sanguíneos.....	44
5.0. Conclusões.....	47
6.0. Referências bibliográficas.....	48

## Lista de Tabelas

- Tabela 1. Composição de aminoácidos da proteína microbiana oriunda de levedura (DEMP®), do farelo de soja e da proteína microbiana de origem ruminal.....22
- Tabela 2. Dados climáticos no período experimental.....26
- Tabela 3. Análise bromatológica dos alimentos utilizados nas dietas experimentais de vacas leiteiras em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).....27
- Tabela 4. Composição dos concentrados experimentais fornecidos para vacas leiteiras em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).....28
- Tabela 5. Composição nutricional das dietas experimentais fornecidas para vacas leiteiras em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).....28
- Tabela 6. Altura do dossel forrageiro de *Panicum maximum* cv. Mombaça na entrada e saída dos animais e disponibilidade de forragem no estrato pastejável para vacas leiteiras suplementadas ou não com fonte de proteína de origem microbiana (DEMP®).....33
- Tabela 7. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca do estrato pastejável do *Panicum maximum* cv. Mombaça, segundo o período experimental, para vacas leiteiras suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).....34
- Tabela 8. Consumo de Pasto, concentrado, feno, MS, MO, PB e FDN por vacas leiteiras em pastejo suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®).....37
- Tabela 9. Digestibilidade aparente da MS,MO e FDN da dieta; e eficiência alimentar de vacas suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana e manejadas em pastejo intensivo.....38
- Tabela 10. Produção e composição de leite de vacas suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®) manejadas em pastejo intensivo.....39

Tabela 11. Relação purinas/creatinina de vacas em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).....43

Tabela 12. Balanço de nitrogênio de vacas em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).....43

Tabela 13. Concentração de glicose plasmática em função do tempo após o fornecimento do concentrado de vacas manejadas em pastejo rotacionado e suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®).....45

Tabela 14. Concentração de uréia no plasma em função do tempo após o fornecimento do concentrado de vacas manejadas em pastejo rotacionado e suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®).....46

## **Lista de Figuras**

Figura 1. Análise das frações da proteína bruta utilizando o tampão borato-fosfato e soluções de detergente neutro e ácido (adaptado do NRC, 2001).....16

## Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a substituição de farelo de soja por proteína derivada de leveduras (PDL) na dieta de vacas Girolando F1 manejadas em pastejo rotacionado (*Panicum maximum* cv. Mombaça) e os efeitos sob a produção e a porcentagem de sólidos e do leite, eficiência do uso do nitrogênio, parâmetro sanguíneos e eficiência alimentar. Foram utilizadas 16 vacas mestiças Holandês-Gir (1/2 sangue), múltiparas, com produção média de 30 kg, com peso médio de  $489 \pm 22$  kg e  $62 \pm 26$  dias em lactação (DEL) no início do experimento, em delineamento de Quadrado Latino 4X4. As dietas experimentais consistiram na substituição de farelo de soja por proteína derivada de leveduras (PDL) nas mesmas proporções, sendo o tratamento *DP0* (sem adição do produto), tratamento *DP150* (substituição de 150 gramas de farelo de soja por DEMP®), tratamento *DP300* (substituição de 300 gramas de farelo de soja por DEMP®) e o tratamento *DP450* (substituição de 450 gramas de farelo de soja por DEMP®). A substituição do farelo de soja por PDL para vacas leiteiras Girolando F1, em pastejo rotacionado, apresentou efeito linear negativo para produção de leite e sólidos, afetou o consumo de FDN, não afetando o consumo total e nem a digestibilidade da dieta. Não houve diferença em balanço de nitrogênio e produção de proteína microbiana entre os tratamentos. Os valores de eficiência alimentar foram menores em altas substituições de farelo de soja por PDL.

**Palavras-chave:** mestiça, pastejo, girolando

## Abstract

The objective of this study was to evaluate the substitution of soybean meal by yeast-derived protein (YDP) in the diet of Girolando (F1) cows under rotational grazing (*Panicum maximum* cv. Mombasa) and the effects on milk production and percentage of solids, nitrogen use efficiency, blood parameters and feed efficiency. Sixteen Holstein-Gir (1/2), multiparous cows with a mean production of 30 kg were used, with a mean weight of  $489\pm 22$  kg and  $62\pm 26$  days in milk at the beginning of the experiment, in a 4X4 Latin Square. The experimental diets consisted of substitution of soybean meal with yeast protein (YDP) in the same proportions, treatment YDP0 (without the product), treatment YDP150 (substitution of 150 grams of soybean meal by DEMP®), treatment YDP300 (substitution of 300 grams of soybean meal by DEMP®) and YDP450 treatment (substitution of 450 grams of soybean meal by DEMP®). The replacement of soybean meal by YDP for dairy Girolando (F1) cows, in rotational grazing, presented negative linear effect for milk and solids production, affected the NDF consumption, without affecting the total consumption nor the digestibility of the diet. There was no difference in nitrogen balance and microbial protein production among treatments. Feed efficiency values were lower in high soybean meal substitutions by YDP.

**Key words:** crossbred, grazing, girolando

## Introdução

Nos últimos anos o Brasil têm se revelado um grande expoente da pecuária leiteira mundial, sendo atualmente o 4º maior produtor de leite do mundo (Fedding...,2013). Os sistemas de produção de leite baseados em pastejo tem alto potencial de produção de forragem de qualidade, o que pode melhorar os índices produtivos e baratear os custos da atividade.

A nutrição das vacas leiteiras é complexa e representa mais da metade dos custos de produção de leite dos diferentes sistemas de produção. A proteína é o segundo nutriente limitante em dietas de animais ruminantes, além disso, as fontes protéicas são os ingredientes mais onerosos na formulação de dietas para vacas em lactação, devido ao seu alto custo unitário e alta inclusão nas dietas. Assim, o uso de fontes protéicas alternativas como a proteína de leveduras (DEMP®), pode otimizar os resultados, seja pela redução dos custos de produção ou pela melhor adequação dos nutrientes disponíveis às necessidades metabólicas do animal (Pina, 2006).

O farelo de soja é a fonte de proteína mais tradicional em dietas de vacas leiteiras e poucas são as alternativas para substituí-lo. Além disso, a demanda desta *commodity* é cada dia maior para a alimentação de animais monogástricos. Pelo fato de ser uma *commodity* seu preço é regulado pelo mercado e independente do que ocorrer no mercado interno seu preço vai oscilar de acordo com sua cotação, em dólar, no mercado internacional.

Um dos maiores desafios da nutrição de vacas leiteiras de alta produção é formular dietas com adequadas concentrações de proteína degradável (PDR) e não degradável no rúmen (PNDR) sem, no entanto, exceder os teores de proteína bruta da dieta (Sabbia, 2011).

Segundo Sabbia (2011), a proteína de leveduras (DEMP®) possui excelente perfil de aminoácidos essenciais, sendo que as porcentagens de metionina e lisina, em relação à proteína total, são 93 e 30% maiores quando comparadas a proteína do farelo de soja, respectivamente.

Atualmente, o excesso de proteína na dieta e a conseqüente contaminação ambiental com nitrogênio têm sido assunto de diversos trabalhos. O aumento na eficiência de uso do nitrogênio reduz os gastos com alimentação, seja por unidade de ganho de peso ou de proteína secretada no leite, e diminui a eliminação de compostos nitrogenados no ambiente (NRC, 2001). Sendo assim, novas tecnologias precisam ser avaliadas a fim de diminuir possíveis problemas ambientais advindos da excreção desses compostos nos sistemas de produção de leite.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi substituir farelo de soja por proteína de leveduras (DEMP®) na dieta de vacas ½ sangue Girolando, com produção média de 30 kg de leite, em sistema de pastejo rotacionado (*Panicum maximum* cv. Mombaça), visando melhorar o aporte de aminoácidos que chega até o intestino delgado e assim aumentar a produção de leite e sólidos, e a eficiência do uso do nitrogênio.

## 2.0 Revisão de Literatura

### 2.1 Manejo intensivo de pastagens tropicais

Nos sistemas de produção de leite baseados em pasto, este pode ser a única fonte de forragem durante grande parte do ano, por isso atentar-se para o manejo do mesmo a fim de produzir alimento volumoso em quantidade e qualidade pode ser determinante para o sucesso da atividade.

Manejar a pastagem de forma adequada significa produzir alimento em quantidade, e colheita do material com alto valor nutritivo. A produção de massa afeta de forma significativa a capacidade suporte da pastagem, enquanto que o valor nutritivo esta diretamente relacionada com o consumo de matéria seca pelo animal. Ambos são influenciados pela fertilidade do solo, manejo e condições climáticas (Drumond e Aguiar, 2005).

As condições climáticas parecem não ser o fator limitante para a produção de leite a pasto na maioria das regiões brasileiras que possuem recursos climáticos favoráveis, tais como: índices pluviométricos entre 1200 e 2000 mm/ano, temperatura média acima de 22°C e alta intensidade luminosa (Aguiar e Silva, 2005).

As forragens tropicais tem alta capacidade de produção de matéria seca (MS) por unidade de área. Segundo Corsi (1990), taxas de acúmulo de mais de 100 kg de MS/ha/dia têm sido relatadas para diversas espécies forrageiras manejadas intensivamente no período das águas. Esse grande potencial de produção possibilita a exploração intensiva dessas forrageiras, com taxas de lotação entre 4 e 10 UA/ha, durante 150 a 210 dias da estação chuvosa e quente do ano, na maior parte do Brasil central (Corsi, 1986; Correia, 2006).

A elevação da produtividade das forrageiras e dos indicadores de desempenho animal são conseguidos mediante o emprego de fertilizantes e corretivos, em conjunto com a utilização de técnicas disponíveis de manejo das plantas forrageiras (Monteiro e Euclides, 2005).

Visando a qualidade nutricional do pasto alguns aspectos como altura, densidade de folhas, relação folha/caule e proporção de material morto devem ser considerados, pois afetam diretamente o consumo de matéria seca e o desempenho animal (Sarmiento, 2003).

Falhas de manejo podem resultar em perdas entre 20 e 80% da forragem produzida (Corsi, 1994). A adoção de períodos fixos de pastejo tem sido criticada por da Silva e Pedreira (1997). Segundo estes autores, o manejo de forragens pela interceptação luminosa (IL) de 95% é melhor quando comparado ao índice de área foliar ótimo (que ocorre quando a interceptação luminosa é de 100%). Quando o dossel atinge 95% de IL as folhas inferiores passam a ser sombreadas. A redução ou ausência de luz na folha induz diminuição da atividade fotossintética. Nesse momento, as taxas de fotossíntese e respiração do dossel forrageiro podem tornar-se muito próximas. Aumentos subsequentes no índice de área foliar reduzem a taxa de acúmulo de pasto em função do aumento das taxas de respiração, resultante de maior proporção de tecidos senescentes, que não possuem atividade fotossintética (Humphreys, 1991). Quando isso ocorre a relação

folha/caule diminui, a planta passa então ao estágio da maturidade e os teores dos componentes de parede celular aumentam (Blaser, 1988).

Carnevalli et al. (2003) e Barbosa et al. (2007) observaram que a taxa máxima de acúmulo líquido de forragem estava relacionada com o ponto em que o dossel interceptava 95% da radiação incidente sobre os capins Mombaça e Tanzânia. A partir desse ponto ocorre mudança na dinâmica do acúmulo de forragem caracterizada por maior senescência da planta e alongamento dos colmos, diminuindo a proporção folha/caule.

Carnevalli (2003) trabalhou com capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) mostrou que existe alta correlação entre a interceptação luminosa a 95% e a altura do pasto, sendo que esta condição esteve constantemente associada a 90 cm de altura. Desta forma recomendações com base na altura poderão ser compreendidas e aplicadas pelos produtores (Da Silva, 2005).

Moura (2013) trabalhou com capim Mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça) em sistema rotacionado com altura de entrada dos animais aos 90 cm e obteve forragem de boa qualidade durante o período experimental (19% MS; 16% PB; 64,9% FDN; 33,9% FDA; 0,6% NIDA; 3,6% lignina; 65,7DIVMS).

Estudos recentes realizados com importantes plantas forrageiras tropicais, como a *Brachiaria brizantha*, cultivares Marandu e Xaraés, e o *Panicum maximum*, cultivares Mombaça e Tanzânia, entre outras, nas quais a estrutura do dossel e seu padrão de variação foram monitorados, têm gerado muitas informações e conhecimento sobre as respostas dos animais e estratégias de pastejo. De uma maneira geral, o conceito de índice de área foliar crítico, condição na qual 95% da luz incidente é interceptada, originalmente descrito e aplicado em plantas de clima temperado, demonstrou-se efetivo e válido também para o manejo de gramíneas tropicais, uma vez que mostrou relação análoga com variáveis como acúmulo de forragem, especialmente folhas, composição morfológica do acúmulo e valor nutritivo da forrageira produzida (Silva e Nascimento, 2006).

## **2.2 Valor nutricional da planta forrageira tropical**

A definição de “valor nutricional” da planta forrageira refere-se à sua composição química, digestibilidade e natureza dos produtos da digestão (Van Soest, 1994).

Dentre as análises químicas realizadas em amostras de forragens aquelas que determinam as frações fibrosas e protéicas são comumente solicitadas, pois com aumento da idade da planta aumenta-se o conteúdo de parede celular e diminui-se a concentração e a disponibilidade do nitrogênio. Segundo Van Soest (1994) as plantas tropicais incorporam o CO<sub>2</sub> atmosférico através da rota fotossintética C4. Isto possibilita elevadas taxas de crescimento, mas a medida que envelhecem as plantas perdem qualidade rapidamente (Paciullo, 2002). Segundo Cecato (2000) o crescimento acelerado das forragens tropicais é acompanhado de rápida maturação com queda precoce no valor nutritivo, acarretando acúmulo de material morto e maior atividade metabólica, convertendo os produtos da fotossíntese em tecidos estruturais, incrementando a parede celular, aumentando a FDN e a FDA, e reduzindo desta forma os teores protéicos e a DIVMS (Clipes et al., 2005). Neste momento as bainhas das folhas atingem maior concentração de fibra bruta e lignina, ocorre

maior senescência das folhas e perda de água, e as hastes se alongam e se tornam pouco suculentas. Juntamente com aumento da produção de massa seca ocorre diminuição na proporção de folhas e na concentração de proteína bruta da forragem. A deficiência de proteína no rúmen limita a produção animal, principalmente devido a baixa atividade dos microrganismos, levando a diminuição da taxa de degradação e passagem da digesta, e provocando diminuição no consumo voluntário (Euclides, 1995).

A ingestão de forragem e a digestibilidade da matéria seca são fatores fundamentais para produção animal em sistemas de pasto (Minson, 1990). Apesar de apresentar melhora na composição química quando bem manejada, as forragens tropicais apresentam baixo teor de matéria seca, o que pode limitar o consumo dos animais, principalmente animais de alta produção (Muller e Falles, 1998). Segundo Combs e Reis (2000) vacas em sistema de pastejo rotativo, quando suplementadas com concentrado, geralmente diminuem a ingestão de matéria seca oriunda da pastagem. Ocorre então o chamado efeito de substituição, em que os animais diminuem o consumo de matéria seca do pasto, mas aumentam o consumo de matéria seca total.

Segundo Balsalobre (2002) e Corsi (1995) a presença de hastes pode reduzir a qualidade das gramíneas tropicais, principalmente devido ao declínio acentuado da digestibilidade. Pinto et al. (1994) trabalhando com capim Guiné observaram que a medida que a planta envelhecia a relação folha/haste diminuía. Nas idades 14, 28, 42, 56 e 70 dias eles obtiveram as relações de 1,3; 1,2; 1,0; 0,7 e 0,5, respectivamente. Quanto menor a altura de corte maior quantidade de hastes serão ingeridas, incrementando assim a fração fibrosa da dieta. Entretanto, as vacas leiteiras tem preferência por folhas, o que faz com que o valor nutricional do material ingerido seja muito superior em relação ao que foi ofertado (Hodgson, 1990), mas para isso é importante oferecer pasto em quantidade suficiente para que elas possam exercer sua habilidade de seleção. Este mesmo autor sugere que apenas os estratos superiores do dossel forrageiro, o qual contém grande volume de folhas, seja pastejado pelos animais de alta produção, sendo o restante da forragem destinada a animais de menor exigência nutricional. Quando os animais tiveram possibilidade de seleção em pastagem de capim elefante houve melhora na composição química do material ingerido, tendo em vista a grande diferença no valor nutricional entre as partes da planta (folhas e hastes), (Veiga et al., 1985).

O intervalo de cortes é outro fator intimamente relacionado com o valor nutricional da forrageira. Braga (2001), avaliando a resposta do capim Mombaça a doses de nitrogênio e intervalos de corte observou diferença quando o intervalo de corte passou de 28 para 42 dias no verão e de 56 para 84 dias no inverno. As concentrações médias de proteína bruta foram de 11,4% e 9,2% no verão e 10,4% e 9,5% no inverno, respectivamente. Os teores de FDN (fibra insolúvel em detergente neutro) foram semelhantes no verão para os dois intervalos de corte (75,3%) e de 76,5% e 72,4% no inverno. Em relação ao FDA (fibra insolúvel em detergente ácido) as médias obtidas no verão foram de 40,4% (28 dias) e 43% (42 dias), e no inverno 39,1% para ambos os intervalos de corte. No verão, o intervalo de corte mais curto apresentou DIVMS (digestibilidade in vitro da matéria seca) de 56,3 % e o mais longo de 53,1%. No inverno a digestibilidade reduziu em 50% para ambos os intervalos em relação ao verão. Os teores de proteína bruta diminuíram tanto no verão quanto no inverno com o aumento do intervalo de cortes. Este trabalho mostra que o aumento no intervalo de corte das gramíneas tropicais afeta diretamente a produção e valor nutritivo das mesmas. Além disso, extensos intervalos de corte resultam em aumento no teor de MS (matéria seca), fibra, lignina e decréscimo da relação folha/haste, teor de

proteína bruta e da digestibilidade, que resultam em queda de consumo (Crowder e Chheda, 1992).

A altura de corte da planta forrageira também tem relação com a composição e valor nutricional. Ao crescer a planta precisa de estruturas de sustentação, que no geral são pouco digestíveis, além de diminuir conteúdo celular, que apresenta digestibilidade entre 98 e 100%. Rego et al. (2001) estudaram a composição bromatológica do capim Tanzânia (PB, FND e FDA) mantidos em quatro alturas diferentes (24 a 26, 43 a 45, 52 a 62 e 73 a 78 cm). O aumento da altura do dossel forrageiro resultou em forragens com menores concentrações de proteína bruta e maiores teores de FDN e FDA.

Assim o ponto ideal de colheita da forragem pelos animais, seria a idade fisiológica na qual fosse possível de se obter máxima produção de massa por hectare sem grandes perdas no valor nutritivo da forragem. Estudos extensamente discutidos por Sbrissia et al. (2007) indicam a porcentagem de interceptação luminosa como ferramenta para encontrar este ponto. De acordo com vários trabalhos revisados por estes autores, o índice de 95% de interceptação luminosa seria o ponto ideal para a maioria das forragens, condição na qual ocorre a maior taxa de acúmulo de folhas (Bueno, 2003; Carnevalli, 2003; Zeferino, 2007).

As gramíneas tropicais apresentam baixos teores de carboidratos solúveis e amido que são raramente superiores a 20% dos carboidratos totais. Assim, a hemicelulose é responsável pela maior taxa de fermentação ruminal e, portanto, é a maior fornecedora de energia para o crescimento microbiano. Desse modo, a relação lignina/FDN é um fator importante a ser analisado no que diz respeito ao valor nutritivo da planta forrageira. Forragens que apresentam baixos valores de lignina, em relação à FDN, disponibilizam altas proporções de parede celular de bom valor nutritivo (Herling et al., 2005).

Para Sniffen et al. (1992) e Russel et al. (1992) o valor nutritivo da planta também está relacionado à porção protéica, considerando seu teor e sua composição em aminoácidos. Eles admitem que as diferentes frações protéicas são de extrema importância para a nutrição animal. Segundo Sniffen et al. (1992) as proteínas em geral, inclusive as encontradas nas forragens, podem ser divididas em 3 frações: nitrogênio não protéico (NNP) – denominado de fração A; proteína verdadeira – fração B; e nitrogênio indigestível – fração C. A proteína verdadeira ainda é fracionada em três subfrações (B1, B2 e B3).

Balsalobre (1996) obteve as frações proteicas do capim *P. purpureum* pastejado com intervalos de 45 dias. Da proteína total, 26,03; 39,11; 47,35 e 9,13% eram respectivamente NNP, nitrogênio solúvel, proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA). Esses valores correspondem a 26,02% de fração A, 13,09% fração B1; 13,54% fração B2; 38,22% fração B3 e 9,13% fração C.

Malafia et al. (1997) trabalharam com quatro forrageiras tropicais (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Pennisetum purpureum* e *Cynodon*) e encontraram valores para a fração C da proteína entre 11,66 e 27,73%. A fração A variou de 11,58 a 32,28% da PB, enquanto que as subfrações B1, B2 e B3 tiveram variação de 0,58 a 4,54; 32,97 a 43,62; e 17,55 a 34,17% da PB, respectivamente.

Lista et al. (2007), trabalhou com *Panicum maximum* cv. Mombaça sob três períodos de ocupação. Este autor observou que a soma das frações B1 e B2 reduziu linearmente com o aumento dos dias em pastejo (6,67; 5,68; 5,51% da MS,

respectivamente para um, dois e três dias de ocupação). Isto mostra que a medida que se aumentou os dias de ocupação houve redução na parcela de proteína digestível.

As forrageiras tropicais, que geralmente são descritas como de baixo valor nutricional, podem apresentar valores nutricionais tão bons quanto de algumas forrageiras de clima temperado, desde que sejam bem manejadas e colhidas no ponto ideal. Para comprovar isso, Lopes (2011) avaliou 106 amostras de forrageiras tropicais (entre elas variedades de *Panicum maximum*, *Penisetum purpureum* e *Brachiaria brizantha*) a fim de caracterizar o perfil de nutrientes e a digestibilidade da fibra das principais gramíneas tropicais produzidas em sistemas de pastejo rotacionado intensivo no Brasil. As plantas foram colhidas ainda imaturas, ou seja, antes de 30 dias pós rebrotação. Os resultados mostraram que as plantas tropicais quando bem manejadas possuem alto teor de proteína bruta e também baixo teor de FDN, variando de 14 a 21%, e de 60 a 63% da MS, respectivamente. A digestibilidade in vitro da FDN foi feita de acordo com o método proposto por Goeser e Combs. As amostras foram incubadas por 24, 30 e 48 horas. As médias de digestibilidade da FDN às 24, 30 e 48 horas foram  $36\pm 13$ ,  $45\pm 13$  e  $61\pm 13\%$ , respectivamente, entre as diferentes espécies. Lopes (2011) ainda concluiu que a espécie forrageira tem grande importância na digestibilidade in vitro da FDN, mesmo que as amostras tenham valores de FND similares.

Diante de todas estas variáveis é preciso encontrar um ponto de equilíbrio no qual o valor nutritivo, a produção e longevidade das pastagens sejam asseguradas, garantindo assim a eficiência dos sistemas de produção de leite a pasto.

### **2.3 Mecanismos de degradação da proteína no rúmen**

As proteínas são polímeros de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, desta forma para serem utilizadas pelos microrganismos precisam ser quebradas em moléculas menores. Esse processo é denominado proteólise.

A degradação da proteína é um processo múltiplo (Owens e Zinn, 1988; Russel et al., 1991), envolvendo solubilização, hidrólise extracelular, transporte para o interior da célula, deaminação e a formação de produtos finais (amônia, AGV, dióxido de carbono e metano), enquanto que, o termo fermentação refere-se somente aos dois últimos passos (Russel et al., 1991) e o termo digestão refere-se aos demais componentes (Valadares Filho, 1995). Portanto, fermentação e digestão são componentes distintos de um processo único, a degradação. De uma forma geral, todos os microrganismos ruminais parecem estar envolvidos no complexo sistema de degradação protéica ruminal.

Os peptídeos, aminoácidos e amônia provenientes da dieta e metabolismo são nutrientes essenciais para o crescimento dos microrganismos ruminais. Porém, para que estes peptídeos sejam incorporados na proteína microbiana eles precisam antes ser reduzidos a aminoácidos (Wallace, 1996). A maior parte deste processo de catabolismo é coordenado por enzimas produzidas pelos próprios microrganismos (proteases, peptidases e deaminases).

As bactérias são os principais e mais abundantes microrganismos do rúmen que fazem degradação de proteína, sendo que mais de 40% das bactérias isoladas tem atividade proteolítica (Broderick, 1991). A maioria das proteases bacterianas estão associadas a superfície celular (Broderick, 1998), e apenas 10% delas se encontram na forma livre dentro do rúmen (Kopecny e Wallace, 1992).

A primeira etapa para a degradação da proteína no rúmen é sua adsorção pelas bactérias ruminais. Nesta fase oligopeptídeos serão degradados a aminoácidos livres ou oligopeptídeos menores. Ambos podem ser transportados ao interior da célula bacteriana, e lá poderão seguir os seguintes destinos: serem degradados até aminoácidos livres; incorporação destes na proteína microbiana; deaminação dos aminoácidos livres até amônia e esqueletos de carbono; utilização da amônia para formação de aminoácidos e difusão da amônia não utilizada para o exterior da célula (Broderick, 1998).

Quando a degradação da proteína excede a taxa de assimilação dos aminoácidos e da amônia em proteína microbiana, ocorre aumento excessivo na concentração de amônia no rúmen. A amônia então pode ser removida do ambiente ruminal, principalmente via difusão, podendo posteriormente retornar ao rúmen ou ser perdida como uréia através da urina (Russel et al., 1991), e isto significa redução na eficiência do uso da PDR pelas vacas leiteiras. (Santos e Pedroso, 2011). Além disso, alguns dos peptídeos e aminoácidos não incorporados na proteína microbiana podem escapar da degradação ruminal e se transformar em fonte de PNDR para o animal (NRC,2001).

O comportamento de incorporação de aminoácidos em proteína microbiana não é homogêneo em toda a flora ruminal. Segundo Russel et al. (1992) os microrganismos ruminais diferem em dois grupos básicos: o primeiro, que degrada carboidratos não fibrosos (CNF), utiliza peptídeos e amônia para síntese de proteína microbiana; o segundo grupo, que degrada carboidratos fibrosos (CF) somente é capaz de utilizar amônia para síntese microbiana. O processo de captação de nitrogênio do meio, na forma de amônia é realizado por dois mecanismos enzimáticos: o primeiro é chamado de glutamato sintetase e não requer energia; o segundo, chamado de glutamamina sintetase, exige ATP, e é mais amplamente utilizado com baixos níveis de amônia no meio (Erfle et al., 1977). Desta forma, a amônia liberada no processo de fermentação de aminoácidos, juntamente com o N amoniacal presente no meio pode ser incorporado novamente ao processo, na forma de proteína.

Os protozoários também estão envolvidos na degradação de proteínas no rúmen, e apesar de estarem presentes em menor número que as bactérias ocupam boa parte da biomassa microbiana do rúmen devido ao seu tamanho. O comportamento ingestivo deles é diferente das bactérias, pois ao invés de se aderir eles ingerem microrganismos e pequenas partículas. Eles degradam pequenos peptídeos a aminoácidos, que são incorporados na proteína do protozoário. Apesar de realizar deaminação eles não são capazes de utilizar amônia para a síntese de novos aminoácidos (Jouany and Ushida, 1999). Segundo estes mesmos autores pouco se sabe sobre o metabolismo dos fungos no catabolismo de proteínas dentro do rúmen, e atualmente assume-se que a participação fungos anaeróbicos seria pouca devido a sua baixa concentração na digesta ruminal.

## 2.4 Cinética de degradação da proteína no rúmen

A degradação da proteína bruta advinda da dieta é um importante fator que influencia a fermentação ruminal e o suprimento dietético de aminoácidos para vacas leiteiras (NRC, 2001). Proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR) são dois componentes da nutrição protéica de bovinos que devem ser tratados separadamente.

A PDR dá origem a peptídeos, aminoácidos e amônia e é utilizada pelos microrganismos ruminais para a síntese de proteína microbiana (Pmic). A síntese de Pmic é responsável pela maior parte dos aminoácidos que chegam ao intestino delgado, enquanto que a PNDR é a segunda maior fonte de aminoácidos. O conhecimento da cinética de degradação ruminal das proteínas é de fundamental importância para formulação de dietas com adequadas concentrações de PDR para os microrganismos do rúmen e de PNDR para atender as exigências do animal.

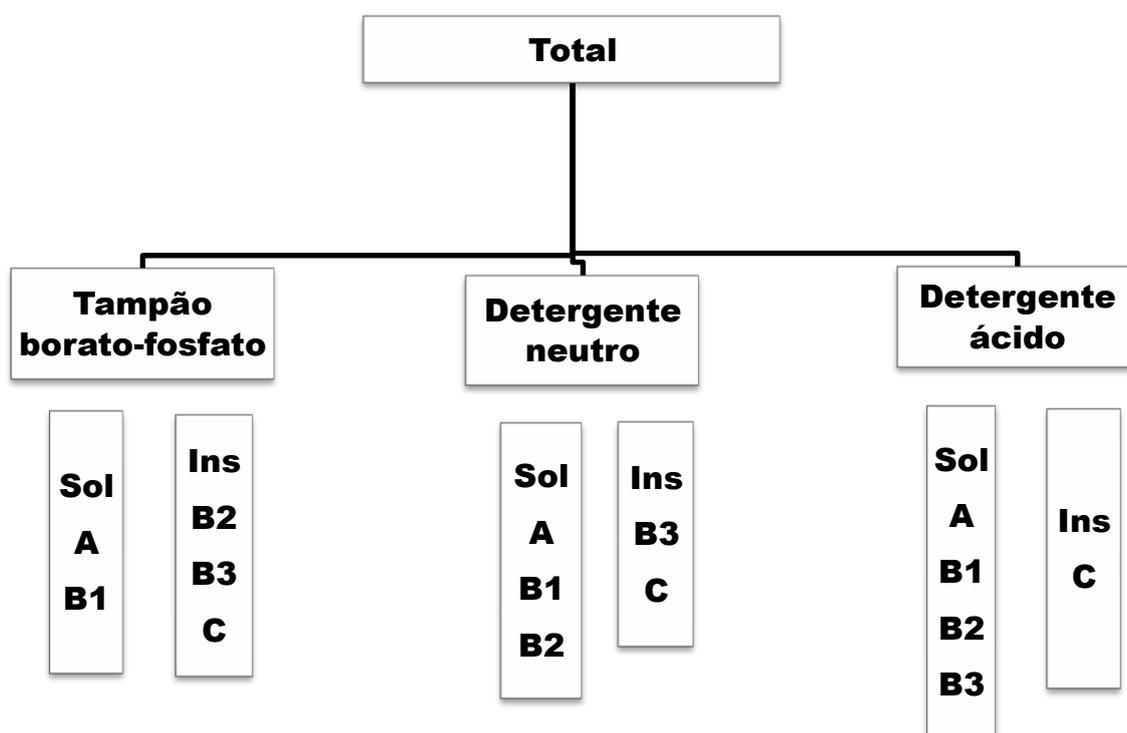
A degradação ruminal de proteínas é descrita por vários modelos. O modelo mais utilizado no mundo, segundo Santos e Pedroso (2011), adota dados de degradação ruminal *in situ* e divide a PB em 3 frações (A, B, C). Esse modelo é adotado pelo NRC (2001). Nele a fração A representa o NNP (nitrogênio não protéico) e uma pequena porção da proteína verdadeira de alta solubilidade ou de tamanho pequeno de partículas que escapam dos sacos de náilon. Esta fração é 100% degradável no rúmen e é obtida no tempo zero de incubação. Já a fração C é totalmente não degradável no rúmen, passando direto para o intestino delgado. Ela é composta do resíduo que permanece nos sacos de náilon após 48 horas de incubação, no caso dos concentrados, ou 72 horas para as forragens. A fração B é obtida por diferença ( $100 - (A+C)$ ) e é a fração potencialmente degradável no rúmen, sendo a única fração afetada pela taxa de passagem da digesta. A proporção da fração B que será degradada no rúmen depende da taxa de degradação e da taxa de passagem. Sendo assim, os valores de PDR e PNDR dos alimentos segundo este modelo são obtidos pelas seguintes equações:

$$PDR = A + B [Kd / (Kd + Kp)]$$

$$PNDR = B [Kp / (Kd + Kp)] + C$$

Outro modelo utilizado para descrever a cinética da degradação ruminal das proteínas é o Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS). Este é um modelo mais dinâmico e utiliza reagentes químicos para determinar a PDR e PNDR dos alimentos. Nesse modelo a PB é dividida em cinco frações (A, B1, B2, B3 e C). Esse sub fracionamento da proteína bruta foi descrito por Sniffen et al. (1992). Essas cinco frações apresentam taxas de degradação (Kd) diferentes, e a taxa de desaparecimento do rúmen está em função de dois eventos simultâneos, a taxa de degradação (Kd) e a taxa de passagem (Kp). A fração A é composta principalmente de nitrogênio não protéico (NNP) e é solubilizada instantaneamente, no tempo zero. Assume-se que esta fração tem kd infinito. Ela é solúvel em solução de borato-fosfato e não precipita em ácido tricloroacético (TCA). A fração C não é degradada no rúmen e é considerada como a fração insolúvel em detergente ácido. Contém proteínas associadas a ligninas, taninos, e indisponíveis por reações, como a de Maillard. Já as frações B1, B2 e B3 representam proteínas verdadeiras potencialmente degradáveis no rúmen. A quantidade de cada uma das frações que é degradada no rúmen é

produto do Kd e do Kp, porém um único valor de kp é adotado para todas as frações. O Kd das frações B1, B2 e B3 são aproximadamente 120 a 400%/h, 3 a 16%/h e 0,06 a 0,55%/h, respectivamente (NRC,2001). A fração B1 é a fração da PB solúvel em solução de tampão borato-fosfato, mas que se precipita com TCA. A fração B3 é calculada como a diferença entre a fração da PB recuperada no FDN e recuperada no FDA (fração C). Já a fração B2 é calculada por diferença entre a PB e as outras frações (B2=PB-A-B1-B3). As diferentes frações da proteína e sua solubilidade em tampão borato-fosfato, detergente neutro e ácido são apresentadas na figura 1.



**Figura 1:** Análise das frações da proteína bruta utilizando o tampão borato-fosfato e soluções de detergente neutro e ácido (adaptado do NRC, 2001).

Sendo assim, as frações PDR e PDNR dos alimentos segundo o modelo CNCPS são determinadas pelas seguintes equações:

$$PDR = A + B1 [kdB1 / (kdB1 + kp)] + B2 [kdB2 / (kdB2 + kp)] + B3 [kdB3 / (kdB3 + kp)]$$

$$PDNR = B1 [kp / (kdB1 + kp)] + B2 [kp / (kdB2 + kp)] + B3 [kp / (kdB3 + kp)] + C.$$

Segundo o NRC (2001) a fração A (NNP) contém amônia, nitratos, aminoácidos e peptídeos e sua degradação ruminal é considerada instantânea, desta forma contribui pouco para a fração de PDNR que chega ao intestino delgado. A fração B1 consiste de globulinas e algumas albuminas. Por sua degradação ser de 200 a 300%/hora, apenas pequenas

quantidades atingem o intestino delgado, mas a digestibilidade desta fração no intestino delgado é completa. A fração B3 contém prolaminas, proteínas associadas à parede celular, e proteínas desnaturadas pelo calor que não sofreram a reação de Maillard. Ela é degradada no rúmen à uma taxa de 0,1 a 1,5%/h. A digestibilidade intestinal é de 80%. A fração C consiste de proteínas danificadas pelo calor (que sofreram reação de Maillard) e o nitrogênio ligado à lignina. Esta fração não é degradada no rúmen e é considerada indigestível no intestino. Numerosos fatores podem afetar a quantidade de proteína dos alimentos que será degradada no rúmen. A química da proteína bruta dos alimentos é isoladamente, o mais importante fator (NRC, 2001). As duas considerações mais importantes sobre a química da PB são: 1- As proporções entre NNP e proteína verdadeira; 2- Características físicas e químicas das proteínas que compõe a fração protéica dos alimentos (ex.: estrutura, diferenças intra e intermolecular, barreiras inertes como parede celular, tratamentos térmicos, fatores antinutricionais, etc...). Outros fatores que afetam a degradação ruminal da proteína são: tempo de retenção da proteína no rúmen, atividade proteolítica ruminal e pH ruminal.

Apesar de o NRC (2001) adotar dados obtidos dos métodos *in situ*, *in vitro* e enzimáticos para estipular as frações proteicas, tais técnicas como a degradabilidade *in situ* tem algumas limitações teóricas que colocam sua acurácia em questão (Broderick, 1991). Existem duas questões principais. A primeira é referente à taxa de degradação das frações solúveis (fração A). Assume-se que esta fração de todos os alimentos incubados *in situ* tem taxa de degradação infinita. E a outra é que a fração da dieta que é degradada no rúmen (fração B) seria inteiramente usada para a síntese de proteína microbiana, produção de amônia e esqueleto de carbono, ou ambos (Reynal et al., 2007). Huhtanen e Hristov (2009) mediram fluxo omasal *in vitro*, utilizando nitrogênio marcado, e demonstraram que havia fluxo considerável de nitrogênio oriundo da dieta, sendo os peptídeos os principais componentes encontrados. Tais estudos sugerem, portanto, que uma parte do nitrogênio solúvel (fração A) não é necessariamente toda degradada e utilizada no rúmen, tal como os modelos que estimam PDR e PNDR através da cinética de degradação assumem.

Ainda sobre cinética da degradação de proteínas, Huhtanen e Hristov (2001) sugeriram que dados oriundos de marcadores cinéticos, provenientes de amostras duodenais, indicaram que a passagem de partículas da dieta não poderia ser descritas assumindo somente o rúmen como único e primeiro sistema cinético. Além disso, em alimentos com alta concentração de nitrogênio não amoniacal, pode-se assumir que o  $K_p$  desta fração é igual ao  $K_p$  da fase líquida. Segundo Agle et al. (2010) a taxa de passagem da fase líquida de vacas de alta produção é de 12%/h, enquanto Choi et al. (2002) sugerem que esta taxa seja de 17%/h. Oliveira (2011) trabalhou com vacas Girolando F1, em sistema de pastejo rotacionado, e encontrou taxa de passagem ( $k_p$ ) da fase sólida da digesta entre 5,52 e 6,36%/hora. Já para fase líquida da digesta a taxa de passagem variou entre 10,09 e 13,24%/hora. O  $k_p$  da fase líquida é afetado por diversos fatores como a produção de leite, ingestão de matéria seca, estágio de lactação, composição da dieta e particularmente pela relação volumoso: concentrado da dieta (Church, 1988).

Alimentos como proteína de leveduras (DEMP®), o qual é composto principalmente por peptídeos e aminoácidos e possui tamanho de partícula extremamente pequeno, fica difícil estimar a acurácia da degradação das frações protéicas através dos programas de cálculo de ração convencionais como NRC (2001) e o CNCPS. Segundo Sabbia (2011) da forma como o NRC (2001) propõe a degradação da fração A dos alimentos, produtos com o DEMP® teriam sua taxa de passagem e contribuição de PNDR subestimadas, e superestimaria a PDR da dieta e o tempo de retenção da digesta no rúmen.

As frações protéicas do DEMP® foram analisadas pelo método de fermentação *in vitro* (Alltech Inc, Brookings, SD), sendo 20,7; 79,3 e zero para as frações A,B e C, respectivamente.

## 2.5 Proteína degradável no rúmen

A proteína degradável no rúmen (PDR) é a que está disponível para microrganismos ruminais realizarem a síntese de proteína microbiana (P<sub>mic</sub>), mas antes ela precisa ser transformada em aminoácidos e amônia para que possa ser utilizada (Kozloski, 2002). Segundo o NRC (2001) a proteína microbiana é responsável pela maior parte da proteína metabolizável que atinge o intestino delgado, logo deve atentar-se primeiramente em atender os requerimentos de PDR para maximizar produção de proteína microbiana.

Segundo Satter e Sylter (1974) quando o rúmen atinge o ponto de saturação de amônia, adição de PDR não resulta em aumento de síntese de proteína microbiana. Entretanto, se a PDR da dieta estiver adequada, adição de PNDR na dieta aumentará a quantidade de aminoácidos que chega até o intestino delgado suportando assim incremento na produção de leite e seus componentes (Santos et al., 1998).

O NRC (2001) assume que a PDR a partir de fontes de NNP como a uréia são tão eficazes como a PDR de proteína verdadeira para a formação de proteína microbiana. Entretanto, a disponibilização de algumas fontes de PDR como a uréia convencional pode ocorrer de forma rápida no rúmen (Broderick e Wallace, 1998) e resultar em perdas de nitrogênio, devido ao excesso de amônia produzido, caso não haja disponibilidade de energia. Ao contrário do que diz o NRC (2001), Hume (1970) demonstrou que carneiros alimentados somente com proteína verdadeira produziram 10% a mais de proteína microbiana em relação aos aqueles que foram alimentados com uréia.

A quantidade de proteína microbiana que pode ser sintetizada no rúmen é limitada pela quantidade de energia disponível (ATP ou matéria orgânica fermentável) e pela eficiência dos microorganismos em utilizar a energia (Church, 1988). Stoke et al. (1991) sugeriram que a produção de proteína microbiana e sua eficiência continuarão crescendo com o aumento de PDR nas dietas desde que os carboidratos não sejam limitantes. Entretanto, com as preocupações atuais em reduzir a proteína bruta da dieta, o objetivo é fornecer quantidade suficiente, mas não exagerada, de PDR nas mesmas, visando atender os microrganismos do rúmen. O NRC (2001) estabelece que a PDR da dieta deve ser 10,2 % da MS, mas aponta 12,2% como o máximo de resposta em produção de leite.

Huhtanen e Hristov (2009) publicaram uma revisão contendo um grande conjunto de dados, incluindo avaliação de 739 dietas norte americanas e 998 dietas do norte da Europa. Eles afirmam que o NRC (2001) superestima a necessidade de PDR pelo animal devido a falta de acurácia na determinação da PDR dos alimentos e também devido a reciclagem de uréia que ocorre no rúmen, e que não é levada em consideração pelo modelo.

Reynal e Broderick (2005) avaliaram o efeito da adição de PDR na dieta sobre a produção de leite e metabolismo do nitrogênio em dietas de vacas holandesas e não encontram diferença na ingestão de matéria seca (IMS), produção de leite, produção de leite corrigida para gordura e produção de gordura, quando os teores de PDR avaliados foram 13,2; 12,3; 11,7 e 10,6% da MS. A PDR na dieta teve efeitos lineares positivos na proteína verdadeira do leite e no fluxo de nitrogênio não amoniacal para o omaso, além de

efeito quadrático na produção de proteína no leite, sendo a produção máxima de proteína com PDR de 12,3% da MS. Entretanto, a PDR da dieta apresentou efeito linear positivo sobre a excreção total de nitrogênio, sendo o nitrogênio urinário responsável pela maior parte deste efeito, e efeito linear negativo na eficiência ambiental do uso do N, ou seja, kg de leite produzido por kg de N excretado. Neste experimento maior rentabilidade e melhor utilização do nitrogênio em relação a questões ambientais foram obtidos quando a PDR da dieta foi de 11,7% da MS.

Kalscheur et al. (2006) também avaliaram diferentes concentrações de PDR na dieta de vacas holandesas sobre a produção de leite. Foram fornecidas quatro dietas experimentais contendo 6,8; 8,2; 9,6 e 11% de PDR na MS da dieta, mantendo-se a PNDR constante (5,8% da MS). As dietas eram compostas de silagem de milho, na proporção de 50% da MS, e 50% de concentrado. A ingestão de matéria seca não variou entre os tratamentos. As produções de leite, de gordura e proteína aumentaram linearmente quando os teores de PDR na dieta aumentaram. Entretanto com o aumento da PDR na dieta a eficiência na utilização do N decresceu linearmente e a concentração de nitrogênio uréico no leite aumentou linearmente.

Sumarizando a suplementação de PDR nas dietas de vacas de alta produção é sabido que a cinética de degradação de carboidratos e proteínas variam grandemente de acordo com a fonte alimentar, composição química e método de processamento. Trabalhos mais recentes são enfáticos quanto à quantidade de PDR na dieta, mostrando que o foco atual não é obter o máximo de produção de leite com excesso de PDR na dieta, mas sim obter o ponto de maior eficiência, em que haja melhor aproveitamento desta PDR para síntese microbiana, melhores retornos econômicos e menor excreção de poluentes derivados do nitrogênio para o ambiente.

## **2.6 Proteína não degradável no rúmen**

Pesquisas realizadas na década de 1960 mostraram que a proteína microbiana de origem ruminal era capaz de atender todo o requerimento de proteína de vacas produzindo até 4.500 kg de leite na lactação. Entretanto, a produção das vacas tem aumentado muito nos últimos anos, sendo que nos EUA a produção mais que duplicou nos últimos 30 anos, com vacas produzindo entre 9.000 a 14.000 kg de leite na lactação (citado por Santos *et al.*, 1998). Para estes animais, a proteína microbiana proveniente do rúmen (Pmic) atende apenas uma parte da demanda por proteína, e grandes quantidades de proteína não degradável no rúmen (PNDR) devem estar presentes na dieta a fim de atender as demandas do animal. Broderick et al. (1991) afirmaram que em situação ideal a quantidade de aminoácidos disponíveis para absorção deve ser igual às necessidades de aminoácidos para atender as exigências de manutenção e de produção dos ruminantes. Entretanto, quando se desejam produções elevadas, ocorre aumento das necessidades protéicas, e para atender estas condições, há necessidade aumentar a síntese de proteína microbiana no rúmen a incrementar a quantidade de PNDR que chega ao intestino delgado.

O conceito de PNDR sofreu mudanças ao longo dos anos. O NRC 1989 assumia que a PNDR era inerente apenas ao alimento enquanto que o NRC 2001 assume que a PNDR de um alimento depende principalmente das taxas de degradação (kd) e passagem (kp) do mesmo pelo rúmen. A velocidade de passagem do alimento no rúmen depende, entre outros fatores, da ingestão de matéria seca (IMS). Quanto maior a IMS, maior a velocidade de passagem. Como consequência, quando a IMS aumenta, a PDR do alimento diminui e a PNDR aumenta.

Segundo o NRC 2001, o uso de tecnologias como calor, agentes químicos ou ambos tem sido empregado para tornar a proteína indisponível no rúmen, aumentando a proteína metabolizável que chega ao intestino delgado. Os processos de aquecimento diminuem a degradação ruminal devido à desnaturação das proteínas e também por reações químicas como Maillard. Já os tratamentos químicos podem alterar a estrutura da proteína, introduzir ligações cruzadas e vincular as mesmas sem alterar sua estrutura (Broderick, 1991).

Santos et al. (1998) em sua revisão falaram sobre as principais fontes de PNDR utilizadas em dietas de vacas leiteiras nos EUA. Essas fontes seriam principalmente: farinha de peixe; farinha de carne e ossos; farinha de pena; farinha de sangue; farelo de glúten de milho; resíduo de destilaria seco e resíduo de cervejaria seco e molhado. Segundo eles, uma boa fonte de PNDR deve complementar o perfil de aminoácidos da proteína microbiana de origem ruminal. Dados revisados por estes mesmos autores demonstraram que, em 15 ensaios (29 comparações), a suplementação de fontes ricas em PNDR, em substituição parcial ou total ao farelo de soja, não resultou em benefícios consistentes no que se refere ao fluxo de proteína e aminoácidos essenciais para o duodeno. Além disso, a suplementação com fontes alternativas de PNDR tem mostrado efeitos inconsistentes na produção de leite, quando comparado com a utilização de farelo de soja. Neste mesmo trabalho a síntese de proteína microbiana foi reduzida pela suplementação com fontes ricas em PNDR em 76% das comparações. Os 88 ensaios de produção (127 comparações) mostraram que a suplementação com fontes ricas em PNDR, em substituição parcial ou total ao farelo de soja, aumentou a produção de leite em apenas 17% dos casos. A suplementação com farelo de glúten de milho respondeu pela maioria dos resultados negativos. O teor de proteína do leite foi reduzido em 22% das comparações, aumentado em apenas 5% e, não afetado nas 73%. Esses dados sugerem, de forma consistente, que para se ter vantagem com a suplementação de fontes ricas em PNDR, elas têm que propiciar melhora no perfil de aminoácidos essenciais da proteína metabolizável que chega ao duodeno. Das fontes suplementares ricas em PNDR, a proteína da soja e da farinha de peixe são as que mais apresentam chances de aumentar a produção de leite de vacas de alta produção, em virtude do seu perfil de aminoácidos. A farinha de peixe é que a que mais se aproxima do balanço de lisina: metionina, 15:5, na proporção de aminoácidos essenciais. As respostas mais consistentes e mais expressivas são encontradas em dietas contendo, principalmente, silagem de alfafa como volumoso, devido ao baixo teor de PNDR deste alimento.

Guidi et. al (2007) trabalharam com vacas holandesas em confinamento, com produção de leite de 27 kg/dia, avaliaram fontes ricas em PNDR como soja tostada e farelo de glúten de milho e não obtiveram aumento na produção de leite.

Segundo Ipharraguerre e Clark (2005) a resposta das vacas leiteiras a suplementação com PNDR é muito variável. Parte desta variação obtida nas pesquisas é devido a fonte de proteína bruta utilizada na dieta controle; da proporção e da fonte de PNDR nas dietas experimentais; ao efeito da PNDR no fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado; a degradabilidade e o perfil de aminoácidos da PNDR; e a porcentagem de proteína bruta da dieta. Quando comparado ao farelo de soja as fontes de PNDR apresentaram média de variação na produção de leite de -2,75 a 2,75%.

Grummer et al. (1996) comparando soja tostada e subprodutos de origem animal como suplementos para aumentar a PNDR da dieta demonstraram que houve aumento na

produção de leite e de proteína após incremento de 5,8 para 7,6% de PNDR na MS da dieta. Contudo, é preciso ficar atento ao aumentar o teor de PNDR das dietas, pois pode não ser uma boa opção quando este aumento é feito em função da redução nos teores de PDR.

Brito e Broderick (2007) avaliaram o efeito de diferentes fontes de proteína na dieta de vacas holandesas sob a produção de leite, utilização de nutrientes e metabolismo do rúmen. As fontes de proteína utilizadas foram uréia, farelo de soja, farelo de algodão farelo de canola. O teor de PB das dietas foram 16,6% variando as proporções de PDR e PNDR. A dieta contendo uréia foi a que apresentou maior teor de PDR (13,1% da MS) e menor PNDR (3,16% MS). As vacas que consumiram esta dieta apresentaram menor IMS, menor eficiência de utilização do N e produziram menor quantidade de leite. Dentre as fontes de proteína verdadeira o farelo de algodão foi o que apresentou os piores resultados em relação à produção de leite e seus componentes, e em relação à eficiência de utilização do N. Segundo os autores isto se deve principalmente ao perfil de aminoácidos da proteína do farelo de algodão quando comparado ao farelo de soja e farelo de canola.

Schor e Gagliostro (2001) em seu trabalho citam a revisão de Santos et al. (1998), e mencionam que estes mesmos autores encontraram poucos resultados expressivos quando farelo de soja foi substituído por fontes de PNDR. Entretanto, pontuam que a maioria dos trabalhos avaliados nesta revisão foram conduzidos em sistemas de confinamento e não em sistemas de pastejo. Segundo estes autores em sistemas de pastejo os animais consomem forragens com alto teor de PB, entretanto boa parte desta proteína é rapidamente degradada no rúmen e não disponibiliza grande quantidade para a absorção intestinal.

A vaca leiteira possui exigência real por aminoácidos e não simplesmente por proteína. A proteína é constituída de 21 aminoácidos principais, sendo que normalmente dez são considerados como “essenciais” ou “indispensáveis” (NRC, 2001), devendo então constar na dieta. A síntese desses aminoácidos essenciais não ocorre nos tecidos de maneira adequada para atender as necessidades metabólicas; ou não são sintetizados pelo organismo ou o são, porém em quantidades insuficientes, principalmente nas fases iniciais do crescimento ou para atender altos níveis de produção. Os aminoácidos “não essenciais”, contrariamente, são sintetizados pelos tecidos em quantidades que satisfazem as exigências do metabolismo, a partir de fontes de carbono e grupos amino de outros aminoácidos ou de compostos mais simples; eles não necessitam constar na dieta. Os aminoácidos considerados essenciais são: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina. Chalupa e Sniffen (1991) também consideram a tirosina e cisteína aminoácidos essenciais para a produção de leite.

As exigências de aminoácidos são atendidas pela proteína metabolizável (PM), que é definida como a proteína digestível pós-ruminalmente, com seus componentes (aminoácidos) absorvidos pelo intestino delgado. Após a absorção, os aminoácidos serão utilizados para a síntese de proteínas, que são vitais para a manutenção, crescimento, reprodução e lactação dos animais. Existe um padrão ideal de aminoácidos absorvidos para cada uma dessas fases acima (NRC, 2001). Segundo o NRC 2001 o valor nutritivo da PM para vacas leiteiras é determinado pelo seu perfil de aminoácidos essenciais e, provavelmente, também pela contribuição dos aminoácidos essenciais na totalidade PM. Quanto mais semelhante for o perfil dos aminoácidos essenciais disponíveis para absorção no intestino delgado da exigência animal, maior será a eficiência do uso dos aminoácidos para síntese protéica e menores as exigências para aminoácidos totais (NRC, 2001).

Na tabela 2 é apresentada uma comparação entre o perfil de aminoácidos do farelo de soja; da proteína microbiana oriunda de leveduras (DEMP®), e da proteína microbiana do rúmen (Pmic).

Tabela 1: Composição de aminoácidos da proteína microbiana oriunda de levedura (DEMP®), do farelo de soja e da proteína microbiana de origem ruminal

AA, % do total de AAE	PML (DEMP®) <sup>1</sup>	Farelo de soja <sup>2</sup>	Pmic rúmen <sup>3</sup>
Arginina	10,9	16,2	10,2
Histidina	5,1	6,1	4,0
Isoleucina	11,1	10,1	11,5
Leucina	17,6	17,2	16,3
Lisina	16,0	13,9	15,8
Metionina	3,6	3,2	5,2
Fenilalanina	9,6	11,6	10,2
Treonina	10,0	8,7	11,7
Triptofano	2,9	2,8	2,7
Valina	13,4	10,2	12,5
Total de AAE, % PB	44,0	45,3	***

AA= aminoácido

AAE= aminoácido essencial

PML = proteína microbiana oriunda de levedura (DEMP®)

Pmic = proteína microbiana de origem ruminal

PB = proteína bruta

1-Fonte: Sabbia, J.A (2011)

2-Fonte: NRC (2001)

3-Fonte: Clark et al. (1992)

Lisina e metionina são os aminoácidos essenciais mais limitantes para a síntese de proteína no leite (Schwab et al., 1992). Lisina parece ser o primeiro aminoácido limitante em dietas a base de milho e metionina quando são fornecidas dietas de alta forragem ou quando a PNDR é em sua maioria oriunda do farelo de soja, proteínas de origem animal (com exceção da farinha de peixes) ou ambos (Schwab et al., 1992). O NRC (2001) aponta a máxima eficiência da proteína metabolizável (PM) para síntese e produção de proteína no leite quando as concentrações de lisina e metionina são de 7,2 e 2,4% da PM, respectivamente, ou quando a relação entre esses aminoácidos é de 3:1. Esta relação considera as proporções de lisina e metionina no tecido muscular e no leite como padrão e, neste sentido, os trabalhos de Valadares Filho et al. (1990) e Schwab (1996) apontaram a proteína bacteriana com uma relação lisina:metionina bastante similar àquela encontrada no tecido muscular e no leite. Rulquin et al. (1993) em sua revisão também demonstraram

que as concentrações ótimas de lisina e metionina como porcentagem da PDI eram respectivamente 7,3 e 2,5 (relação de 2,92:1).

A suplementação com PNDR para vacas de alta produção em condição de pastejo não tem sido foco de muitos estudos. Esse tipo de suplementação tem como objetivo principal aumentar a PM e melhorar o perfil de aminoácidos que chega ao intestino delgado, já que um dos principais fatores que afetam a síntese de proteína do leite é a disponibilidade e o perfil de aminoácidos que chegam até a glândula mamária (NRC, 2001).

## 2.7 Proteína na dieta de vacas em lactação

A formulação de dietas para vacas leiteiras vem sofrendo mudanças ao longo dos anos, principalmente no que se diz respeito ao balanceamento de proteínas e aminoácidos. Por muitos anos os requerimentos de proteína para produção de leite foram expressos em proteína bruta. Entretanto, as exigências do animal são especificamente em aminoácidos e não em proteínas. Os aminoácidos absorvidos serão utilizados para manter as funções vitais, crescimento, reprodução e lactação (NRC, 2001). O NRC de aves (1994) e o de suínos (1998) assumem que existe um perfil de aminoácidos ideal na proteína metabolizável (PM) para cada fase fisiológica do animal e o mesmo é pensado para bovinos de leite.

Atualmente, o objetivo da nutrição protéica de vacas leiteiras é fornecer adequadas quantidades de proteína degradável e não degradável no rúmen, obtendo bom desempenho com o mínimo de proteína bruta na dieta (Agle et al., 2010). Dessa maneira é possível melhorar a eficiência do uso do nitrogênio e diminuir a contaminação ambiental provocada pela eliminação do excesso do mesmo. Apesar disso, muitos produtores de leite ainda oferecem dietas com alto teor de proteína bruta a fim de garantir proteína metabolizável suficiente para seus animais.

O conceito de proteína bruta não é esclarecedor quanto às proporções de proteína verdadeira e de nitrogênio não protéico (NNP), a taxa e extensão de degradação ruminal das proteínas, e a composição e digestibilidade intestinal dos aminoácidos que compõem a PNDR (NRC, 2001). Os sistemas de nutrição e formulação de rações para ruminantes evoluíram do conceito de utilização da PB como referencial protéico para as adequações das rações em proteína degradável no rúmen (PDR) e em proteína metabolizável (PM) (Sniffen et al., 1992; NRC, 2001).

A proteína é um nutriente de alto impacto no desempenho produtivo dos animais e pode influenciar diretamente na produção de leite. De acordo com análises de regressão multivariada (NRC, 2001), a produção de leite aumentou em 0,75 kg dia<sup>-1</sup> quando a proteína bruta da dieta (PB) passou de 15 para 16%, e em 0,35 kg dia<sup>-1</sup> quando passou de 19 para 20%. A produção de leite máxima foi atingida com 23% de PB na dieta (NRC, 2001). Ipharaguerre e Clark (2005) utilizando um banco de dados de 112 estudos publicados entre 1981 e 2003, observaram aumento na produção de leite de 0,94 e 0,42 kg dia<sup>-1</sup> quando os teores de proteína bruta da dieta passaram de 15 para 16% e de 19 para 20%, respectivamente. A produção máxima foi obtida com teor de proteína bruta na dieta de 22,8%. Mas segundos estes mesmos autores, o desafio atual dos nutricionistas é formular dietas com o mínimo de proteína bruta buscando atingir o ponto ótimo de produção de leite, e não necessariamente o máximo de produção de leite. Além disso, é importante identificar fontes suplementares de proteína que irão realizar este objetivo com

máxima eficiência nutricional, minimizando as preocupações ambientais e os custos econômicos.

Imaizumi et. al (2010) revisaram 13 estudos sobre a quantidade de proteína na dieta de vacas em lactação, publicados entre 2005 e 2009, e relataram que a produção de leite foi aumentada consistentemente quando os teores de PB de dietas abaixo de 15% foram elevados entre 15 e 17% PB.

Broderick (2003) avaliou o efeito da adição de proteína bruta e energia na dieta de vacas holandesas confinadas produzindo acima de 30 kg de leite dia<sup>-1</sup>. As dietas experimentais continham 15,1; 16,7 e 18,4% de PB na MS e isto foi conseguido substituindo-se silagem de grão úmido de milho por farelo de soja na dieta. Neste experimento não houve interação entre os teores de energia e proteína, o que possibilitou avaliar os efeitos da inclusão de proteína sem interferência da energia. Com aumento da PB na dieta também aumentou a excreção de N, principalmente através da urina. Em outro estudo feito por Olmos e Broderick (2006) avaliando-se inclusão de PB nas dietas, nas concentrações 13,5; 15,0; 16,5; 17,9 e 19,4% da MS, os melhores resultados em relação à produção de leite foram obtidos no tratamento com 16,5% de PB na dieta. Foi observado efeito quadrático tanto para produção de leite quanto para produção de proteína, sendo os melhores resultados para produção de leite e proteína alcançados com 16,8 e 17,1% de PB, respectivamente.

Dados de 82 estudos de nutrição protéica foram utilizados pelo NRC (2001) para avaliar respostas a mudanças na concentração de proteína da dieta no que se refere à produção de leite. Quando o conteúdo de PB das dietas muda, a contribuição relativa de proteína de diferentes fontes também muda, logo esta avaliação pode ser afetada por fontes de proteína e concentrações de PDR e PNDR. De maneira geral, a produção de leite aumenta de forma quadrática quando a concentração de PB aumenta. A equação de regressão a seguir foi descrita pelo NRC (2001):

$$\text{Produção de leite} = 0,8 \times \text{IMS} + 2,3 \times \text{PB} - 0,05 \times \text{PB}^2 - 9,8 \quad (r_2 = 0,29)$$

Em que,

IMS = ingestão de matéria seca em kg/dia

PB = % de proteína bruta na matéria seca.

Na equação acima, quando se aumenta os teores dietético de proteína de 14 para 18%, espera-se um aumento de 2,8 kg de leite/dia.

O NRC (2001) chama atenção para um fato interessante de que ocorre aumento decrescente da produção de leite de acordo com o aumento da PB da dieta.

Equações de regressão também foram utilizadas para avaliar as respostas em produção de leite para as concentrações dietéticas de PDR e PNDR. A equação obtida segue descrita abaixo:

$$\text{Produção de leite} = - 55,61 + 1,15 \times \text{IMS} + 8,79 \times \text{PDR} - 0,36 \times \text{PDR}^2 + 1,85 \times \text{PNDR} \quad (r_2 = 0,52)$$

Em que,

IMS e produção de leite estão em kg/dia e PDR e PNDR em % da matéria seca.

Segundo o NRC (2001), assumindo que consumo de matéria seca e PNDR da dieta são constantes, a resposta em produção de leite devido à suplementação com PDR é muito maior para dietas com teores de 12 a 17% de PB, mas reduz drasticamente quando a PDR é

adicionada em dietas contendo 17% de PB ou mais. Isso implica que vacas não respondem a aumentos acima de 11-12% de PDR quando a PB da dieta estiver em torno de 17-18%. Entretanto, a produção de leite das vacas poderá ser duramente penalizada se PDR for deficiente na dieta (PDR menor que 10%). A queda na produção de leite deve refletir pobre crescimento bacteriano e pobre fermentação ruminal da energia da dieta.

Já em relação à suplementação com PNDR (assumindo IMS e PDR constantes na dieta), a produção de leite apresenta resposta linear de 1,85 kg/dia para cada unidade percentual incrementada de PNDR na dieta.

Apesar da proteína microbiana de origem microbiana representar a maioria dos aminoácidos (aproximadamente 50%) que chegam ao intestino delgado (NRC,2001), e de obter excelente perfil de aminoácidos, as exigências destes aminoácidos por vacas de alta produção pode não ser atendido somente por esta fonte (Brito e Broderick, 2007). Isso porque vacas no início da lactação, muitas vezes ingerem menos energia e nitrogênio do que o adequado para suportar elevadas taxas de produção de leite e seus componentes. Vacas nestas condições utilizam a proteína do corpo para complementar os aminoácidos da dieta e a proteína microbiana que atingem o intestino delgado, para manter um fornecimento adequado de aminoácidos para a glândula mamária e esqueleto de carbono para gliconeogénese no fígado (Bequette et al., 1998). Logo, a primeira premissa a ser cumprida na formulação de dietas seria a maximização da síntese de proteína microbiana no rúmen e em seguida suprir o restante da exigência de animais de alta produção através de suplementação com PNDR.

A literatura ainda é carente em dados relativos à adequação protéica das dietas de vacas manejadas em pastejo intensivo. Neste sentido, os trabalhos de Pereira (2005) e Danés (2010) podem ser citados como referência ao testarem diferentes concentrações de proteína bruta no concentrado de vacas manejadas em pastejo rotacionado de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). Mais estudos ainda precisam ser conduzidos a fim de avaliar a adequação correta de proteína para vacas manejadas desta maneira. É preciso desvendar as frações proteicas dos capins tropicais mais utilizados nos sistemas de produção de leite a pasto, assim como adequação dos teores de PDR e PNDR do suplemento concentrado para obter resultados satisfatórios com o máximo de eficiência.

### 3.0 Material e métodos

#### 3.1 Local, período e fatores climáticos

O experimento foi realizado na Fazenda Vargem Grande, município de Monsenhor Paulo, na região centro-sul do Estado de Minas Gerais (898 m de altitude, 21°45'28" de latitude sul, 45°32'27" de longitude oeste). O clima é caracterizado por duas estações bem definidas: período seco, de abril a setembro e período chuvoso, de outubro a março. Os dados climáticos durante o período experimental se encontram na tabela 2, O experimento teve início dia 28 de dezembro de 2012 e terminou dia 26 de março de 2013.

Tabela 2. Dados climáticos no período experimental

Mês	Chuva (mm)	Temperatura C°		
		Mínima	Máxima	Média

Dezembro	185,0	15,8	36,4	24,1
Janeiro	280,0	15,2	35,1	23,2
Fevereiro	103,0	16,8	39,7	25,8
Março	130,5	15,8	39,2	24,0
Média	174,6	15,9	37,6	24,3

Fonte: Dados obtidos na própria fazenda.

### 3.2 Animais, dietas experimentais e delineamento experimental

Foram utilizadas 16 vacas mestiças Holandês-Gir (1/2 sangue), multíparas, com produção de leite diária de aproximadamente 30 kg, peso médio de  $489 \pm 22$  kg, e  $62 \pm 26$  dias em lactação (DEL) no início do experimento.

As dietas experimentais consistiram na substituição de farelo de soja por proteína de origem microbiana (DEMP® - Alltech Inc, Brookings, SD) nas mesmas proporções, sendo o tratamento *DP0* (sem adição do produto), tratamento *DP150* (substituição de 150 gramas de farelo de soja por DEMP®), tratamento *DP300* (substituição de 300 gramas de farelo de soja por DEMP®) e o tratamento *DP450* (substituição de 450 gramas de farelo de soja por DEMP®).

O delineamento experimental adotado foi o de Quadrado Latino 4 x 4, com 4 repetições, simultâneos. Os quadrados foram montados de maneira homogênea, contemplando produção de leite e dias em lactação (DEL). Os períodos experimentais foram de 21 dias cada, sendo que do 1° ao 14° dia foi considerado período de adaptação dos animais às dietas e do 15° ao 21° dia, período de coletas e avaliações.

### 3.3 Manejo da pastagem

As vacas foram mantidas em piquetes de capim Mombaça (*Panicum maximum* cv Mombaça), com área média de 0,47 ha. O manejo de pasto foi condicionado pela altura, ocorrendo à entrada em torno de 90 cm e saída em torno de 50 cm, dependendo da disponibilidade de piquetes, a fim de que o pastejo fosse realizado utilizando o critério de 95% de interceptação luminosa (Bueno, 2003). Os animais permaneceram por um dia em cada piquete e foram manejados juntamente com o lote de maior produção da fazenda em taxa de lotação de 8 UA/ha. Os piquetes foram adubados após a saída dos animais e a adubação média durante o experimento foi de 350 Kg de N, 50 Kg de P e 100 Kg de K por ha.

A disponibilidade da forragem foi estimada duas vezes por semana, antes da entrada dos animais nos piquetes pelo método direto de corte na altura do estrato pastejável, 50 cm de altura. Foi utilizada uma moldura de 1m<sup>2</sup>, a qual era lançada aleatoriamente no piquete em seis pontos, de acordo com Penati (2002). O material foi pesado, picado manualmente e retirada uma amostra, a qual foi colocada em saco, identificada e congelada (-20°C) para posteriores análises.

### 3.4 Dietas e manejo dos animais

Os alimentos utilizados para a formulação das dietas e suas composições bromatológicas são apresentadas na tabela 3. Todos os ingredientes do concentrado foram misturados em misturador de ração vertical, com capacidade para 1000 kg por batida, exceto o DEMP®, que foi misturado ao concentrado momentos antes do fornecimento.

A suplementação concentrada foi dividida igualmente em três períodos do dia, após cada ordenha e às 11:00h. A suplementação era feita em um estábulo, com cochos individuais, com canzil e separação interna. As vacas permaneciam pelo menos 30 minutos com acesso individual ao concentrado, e após a alimentação eram conduzidas aos piquetes.

A fim de garantir melhores condições no ambiente ruminal, foi adicionado na dieta 0,5 kg de feno na matéria natural. O feno era fornecido no trato das 11:00h, período que culminava com a menor procura de pasto pelos animais.

Tabela 3. Composição bromatológica dos alimentos utilizados nas dietas experimentais de vacas leiteiras em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®)

Alimento	MS%	Nutrientes % da MS				
		PB	FDN	FDA	EE	Cinzas
Feno de tifton-85	86,00	12,87	77,85	34,32	2,12	7,30
Farelo de soja	85,74	49,58	27,94	6,95	2,11	6,75
Polpa de citros	89,82	7,33	21,83	20,26	3,22	7,02
Casca de soja	88,06	11,2	65,9	47,57	1,5	4,06
Milho moído	87,56	8,40	12,57	3,36	4,36	1,64
<sup>1</sup> DEMP®	95,03	43,32	0,59	0,43	0,80	6,93

MS = matéria seca; PB = proteína bruta; EE = Estrato etéreo; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = Fibra insolúvel em detergente ácido.

<sup>1</sup>DEMP® = proteína microbiana produzida por Alltech® (mínimo 40% proteína bruta)

Durante o período de coleta as sobras de concentrado e feno foram pesadas e anotadas ao final de cada dia. Em cada período foram coletadas amostras dos concentrados experimentais e feno, que eram armazenadas e congeladas (-20°C) para posteriores análises. Na tabela 4 são apresentadas as composições dos concentrados experimentais e na tabela 5 são apresentadas as composições nutricionais das dietas experimentais segundo o NRC (2001).

Tabela 4. Composição dos concentrados experimentais fornecidos para vacas leiteiras em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).

Ingredientes, %MS	Tratamentos			
	DP0	DP150	DP300	DP450
Milho moído	50,80	50,80	50,80	50,80
Polpa de citrus	17,78	17,78	17,78	17,78
Casca de soja	7,62	7,62	7,62	7,62
Farelo de soja	18,20	16,93	15,66	14,39
<sup>1</sup> DEMP®	0,00	1,27	2,54	3,81
<sup>2</sup> NutronMilk®	4,83	4,83	4,83	4,83
Bicarbonato de sódio	0,76	0,76	0,76	0,76

MS = matéria seca

DP 0 = tratamento controle (sem adição de DEMP®); DP 150 = substituição de 150 gramas de farelo de soja por 150 gramas de DEMP®; DP 300 = substituição de 300 gramas de farelo de soja por 300 gramas de DEMP®; DP 450 = substituição de 450 gramas de farelo de soja por 450 gramas de DEMP® .

<sup>1</sup> DEMP® = proteína microbiana produzido por Alltech® ( mínimo 40% de proteína bruta)

<sup>2</sup> NutronMilk TMOLB (17,5% Ca; 2,5% P; 10% Na; 1,0% K; 4.2% Mg; 1.0% S; 1294,5ppm Mn; 8,9 ppm Co; 402 ppm Cu; 22,3 ppm I; 11,3 ppm Se; 1697 ppm Zn; Monensina sódica 460 ppm; Vitamina A 150.000 UI; Vitamina D 37.500 UI; Vitamina E 937,5 UI; Biotina 30,77 ppm; 15% NaHCO<sub>3</sub>).

Tabela 5. Composição nutricional das dietas experimentais fornecidos para vacas leiteiras em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).

Nutrientes, %MS	Dietas experimentais			
	DP0	DP150	DP300	DP450
PB	15,6	15,6	15,6	15,6
PDR	9,7	9,7	9,7	9,7
PNDR	5,9	5,9	5,9	5,9
FDN	36,0	36,0	36,0	36,0
FDN forragem	26,1	26,1	26,1	26,1
CNF	40,3	40,3	40,3	40,3
NDT	71,0	71,0	71,0	71,0
ELI Mcal/kg	1,57	1,57	1,57	1,57
Ca	1,0	1,0	1,0	1,0
P	0,4	0,4	0,4	0,4
EE	3,4	3,4	3,4	3,4

Para o cálculo das dietas experimentais o consumo de pasto foi estimado em 7,5 kg de MS.

### 3.5 Avaliação da produção e composição do leite

A produção de leite foi mensurada do 15° ao 20° dia do período experimental, durante as ordenhas da manhã, às 5:00, e da tarde, às 17:00. A ordenha dos animais foi

realizada através de equipamento de ordenha mecânica (modelo Dematron® 7075 – GEA Farm Technology), sem a presença do bezerro e com aplicação de ocitocina endovenosa (2UI/ordenha).

Foram coletadas amostras de leite das seis primeiras ordenhas, através de coletores acoplados ao equipamento de ordenha. As amostras de leite foram acondicionadas em frascos plásticos sob refrigeração (4°C) com 2-bromo 2-nitropropano 1,3-diol na relação de 10 mg para 50 mL de leite, e posteriormente analisadas para teores de gordura, proteína, lactose e nitrogênio uréico no leite (NUL), no aparelho ChemSpeck 150 de espectrofotometria de trans-reflectância.

As produções diárias de gordura, proteína e lactose foram calculadas multiplicando-se a produção de leite pelos respectivos teores obtidos nas análises, de cada ordenha. As produções da manhã e da tarde foram somadas e a média dos três dias de coleta calculada. A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (LCG 3,5%) e de leite corrigido para sólidos totais (LCST) foram obtidas pelas equações propostas por Tyrrel e Reid (1965):

**LCG 3,5%** = (0,432 X PL) + (16,2 X PG ), sendo:

- LCG 3,5% = Produção de leite corrigido para 3,5% de gordura (kg/dia).
- PL = Produção de leite (kg/dia).
- PG = Produção de gordura (kg/dia).

**LCST** = PL, sendo: (12,3 X PG) + (6,56 X SNG) – (0,0752 X PL)

- LCST = Produção de leite corrigido para sólidos totais
- PG = produção gordura (kg/dia)
- SNG = Produção de sólidos não gordurosos (kg/dia)
- PL = Produção de leite (kg/dia).

A secreção diária de energia no leite (SDEL) foi obtida pela equação citada no NRC (2001):

**SDEL** = [(0,0929 X % gordura) + (0,0547 X % proteína) + (0,0395 X % lactose)] X PL, sendo:

- PL = Produção de leite (kg/dia).

Já a produção de leite corrigido para energia (**LCE**) foi obtido dividindo-se SDEL/0,70, assumindo-se que o conteúdo de energia do leite com 3,7% de gordura, 3,2% de proteína, 4,6% de lactose é 0,7 Mcal/kg.

Para estudar a eficiência de conversão de MS em leite, foi calculada a eficiência com a seguinte fórmula:

**Eficiência** = Produção de leite (kg) / MS ingerida (kg)

### 3.6 Determinação do consumo de pastagem e digestibilidade aparente

Para determinação da produção fecal (PF), foi utilizado marcador externo LIPE<sup>®</sup> (hidroxifenilpropano modificado e enriquecido) descrito por Saliba et al. (2003), fornecido na dose de 0,5 g/vaca/dia via oral uma vez no dia, durante sete dias consecutivos, do 14° ao 20° dia do período experimental.

A coleta das fezes, em torno de 500 g / animal / dia, para análise de excreção do indicador, foi realizada duas vezes ao dia após as ordenhas diretamente na ampola retal das vacas do 17° ao 21° dia do período experimental e foram estocadas a -20 °C.

Ao final do experimento as amostras foram pré-secadas em estufa com ventilação forçada regulada a 55°C por 72 horas e determinou-se o teor de matéria pré-seca. Em seguida as amostras foram moídas em moinho dotado de peneira com crivos de 1 mm de diâmetro. Posteriormente, foi feita uma amostra composta por período experimental, e análises dos teores de matéria seca (MS) em estufa a 105 °C (Lenkeit e Becker, 1956), proteína bruta (PB) pelo método Kjeldahl (A.O.A.C., 1995), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com Van Soest et al. (1991), e determinação de cinzas em mufla a 600 °C, de acordo com A.O.A.C (1990). Todas as análises das forragens foram feitas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG.

Posteriormente estas amostras foram analisadas em equipamento espectrômetro de infravermelho para determinação da concentração de LIPE<sup>®</sup>, possibilitando o cálculo da produção total de fezes (PFt), obtida pela fórmula:

$$PFt = LIPE^{\circledast} \text{ ingerido (g/dia) / LIPE}^{\circledast} \text{ excretado (g/g de MS de fezes).}$$

Para determinar o consumo individual diário de MS foi utilizado o método indireto a partir da relação entre as estimativas da PFt e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) (Pond et al., 1990; Aroeira, 1997), como demonstrado abaixo:

Consumo de pastagem (kg de MS) = PF proveniente da pastagem (PFp) x 100 / (100 – DIVMS da pastagem).

PFp = PFt – (PFc + PFf) sendo,

PFt = Produção fecal total

PFp = Produção fecal proveniente da pastagem

PFc = Produção fecal proveniente da ração concentrada

PFf = Produção fecal proveniente do feno

A Pfc e Pff foram obtidas através das seguintes fórmulas:

PFc = Consumo de concentrado (kg MS / vaca / dia) x (100- DIVMS do concentrado).

Pff = Consumo de feno (kg MS / vaca / dia) x (100- DIVMS do feno).

A digestibilidade aparente da MS, MO, PB, FDN foram calculados como sendo a relação entre, a diferença da quantidade consumida e nas fezes, conforme a fórmula:

Digestibilidade da MS = (Kg de MS consumido – Kg de MS nas fezes/Kg de MS consumido) x 100

Digestibilidade dos nutrientes = ((Kg de MS consumido X % nutriente MS consumido) – (Kg de MS nas fezes X % nutriente MS nas fezes) / (Kg de MS consumido X % nutriente)) x 100

### 3.7 Determinação dos derivados de purina e creatinina na urina

Para análise de urina foi feita coleta spot, duas amostras no 15º e 16º dia de cada período durante o tempo que as vacas estavam presas recebendo a suplementação com concentrado. Uma alíquota de 5 mL de urina foi diluída em 45 mL de uma solução contendo ácido sulfúrico 0,036N, e armazenada -10 °C.

Ao final do experimento as amostras de urina foram descongeladas para elaboração de uma amostra composta por vaca, por período, para quantificação dos derivados de purinas (ácido úrico e alantoína), creatinina e nitrogênio.

Uma alíquota foi analisada para determinação da concentração de creatinina e ácido úrico através de kits comerciais (Bioclin®). O teor de nitrogênio da urina foi obtido pelo método Kjeldahl (A.O.A.C., 1995). A concentração de alantoína foi determinada pela técnica descrita por Chen e Gomes (1992) e a absorvância foi analisada por colorimetria a 522nm.

O cálculo do volume urinário foi feito de acordo com equação proposta por Magalhães *et al.* (2005), utilizando a excreção média diária de creatinina em função do peso vivo do animal, obtida por Chizzotti *et al.* (2004), que é de 24,05 mg/Kg de PV/dia e da concentração de creatinina na amostra (mg/L). Segue a fórmula utilizada:

Volume de urina (L) = PV (kg) x excreção de creatinina (mg/kg de PV) / Concentração de creatinina (mg/L)

### 3.8 Determinação do balanço de nitrogênio

Para calcular o balanço de N no animal, foi calculada a perda de N nas fezes (g), na urina (g) e o N excretado no leite sob a forma de NNP (que corresponde a duas vezes o valor de NUL, segundo DePeters e Ferguson (1992)). Então, do total de N consumido foi calculado o teor de N, que foi excretado, ou transformado em proteína do leite.

A eficiência do uso do nitrogênio foi calculado pela seguinte fórmula:

**Eficiência do uso N** = (proteína leite/6,38 – NUL x2)/ N consumido

### 3.9 Determinação dos metabolitos sanguíneos

Amostras individuais de sangue foram coletadas na veia ou artéria coccígea em cada uma das 16 vacas, no último dia experimental (21<sup>o</sup> dia), utilizando tubos vacutainer contendo ativador de coágulo e gel separador para análise de ureia, e Fluoreto de Sódio para análise de glicose.

Quatro coletas foram realizadas. Uma, imediatamente, após o fornecimento do trato de concentrado, e três, a cada 2 horas. O sangue foi centrifugado (5.000 rpm) e o plasma congelado em microtubos tipo “ependorf” para posterior análise da concentração de uréia e glicose. Foram utilizados kits comerciais (Synermed®) e os procedimentos foram realizados em aparelho automatizado (Cobas Mira -Brasil).

### 3.10 Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi Quadrado Latino 4 x 4. As análises estatísticas para consumo, digestibilidade, produção e composição do leite, excreção de derivados de purinas e balanço de nitrogênio foram executadas pelo modelo misto do SAS 6.12 (Proc Mixed) para Quadrado Latino (SAS, 1989), utilizando-se contrastes linear e quadrático, considerando  $\alpha = 0,05$ .

$Y_{ijkl} = \mu + QLi + (A/QL)j + (P/QL)k + Tl + \epsilon_{ijkl}$ , em que:

$Y_{ijkl}$  = variável dependente da resposta animal;

$\mu$  = média geral;

$QLi$  = efeito do quadrado latino i;

$(A/QL)j$  = efeito do animal j no quadrado latino;

$(P/QL)k$  = efeito do período k no quadrado latino;

$Tl$  = efeito do tratamento l;

$\epsilon_{ijkl}$  = erro associado à média.

A análise estatística para os parâmetros sanguíneos foi realizada pelo modelo misto do SAS 6.12 (Proc Mixed) com parcelas subdivididas, utilizando-se contrastes linear e quadrático, considerando  $\alpha = 0,05$ .

$Y_{ijklm} = \mu + QLi + (A/QL)j + (P/QL)k + Tl + \epsilon_{ijkl} + (Tempo)m + (Trat * tempo)lm + \alpha_{ijklm}$ , em que:

$Y_{ijklm}$  = variável dependente da resposta animal; tempo m.

$\mu$  = Média geral;

$QLi$  = efeito do quadrado latino i;

$(A/QL)j$  = efeito do animal j no quadrado latino;

$(P/QL)k$  = efeito do período k no quadrado latino;

Tl = efeito do tratamento l;

$\epsilon_{ijkl}$  = erro aleatório atribuído à parcela;

(Tempo) $m$  = efeito do tempo de avaliação  $m$ ;

(Trat \* tempo) $lm$  = interação entre o tratamento l com o tempo  $m$ ;

$\alpha_{ijklm}$  = erro aleatório atribuído à subparcela

## 4.0 Resultados e Discussão

### 4.1 Disponibilidade e composição da forragem

A disponibilidade de forragem e a altura de entrada e saída dos animais nos piquetes são apresentadas na tabela 6 de acordo com o período experimental. O objetivo de realizar o pastejo do *Panicum maximum* cv. Mombaça com altura de 90 cm, o que corresponde a 95% de IL (Carnevali, 2003), foi relativamente alcançado.

Tabela 6. Altura do dossel forrageiro de *Panicum maximum* cv. Mombaça na entrada e saída dos animais e disponibilidade de forragem no estrato pastejável para vacas leiteiras suplementadas ou não com fonte de proteína de origem microbiana (DEMP®)

Período	Altura de entrada (cm)	Altura de saída (cm)	MS/ha <sup>1</sup> (kg)	MS/vaca/dia <sup>1</sup> (kg)
1	100,9	58,8	3868,4	25,4
2	88,7	48,6	2940,7	19,3
3	89,1	51,1	2893,4	19,0
4	87,3	49,9	2761,4	18,1
Média	91,5	52,1	3116,0	20,5

<sup>1</sup>Massa de forragem no estrato pastejável, MS = Matéria Seca

A disponibilidade média estimada de forragem no estrato pastejável durante o período experimental foi de 3.116 kg de MS/ha semelhante aos relatados na literatura em trabalhos que estimaram a disponibilidade de biomassa da forragem por meio do estrato pastejável (Aroeira et al., 1999; Deresz, 2001; Paciullo et al., 2008). Sob o ponto de vista de nutrição animal, esta técnica apresenta a vantagem de estimar valores próximos da biomassa potencialmente consumível por animais em pastejo (Paciullo et al., 2008).

A disponibilidade de forragem parece não ter sido um fator limitante no consumo dos animais, diversos trabalhos têm apresentado disponibilidades semelhantes. Paciullo et al. (2008), Danés (2010) e Chagas (2011) trabalhando com capim elefante observaram uma disponibilidade de 3402, 3.350 e 2.800kg de MS/ha referente ao estrato pastejável, e consumo de 12,96; 9,03 e 9,56 kg de MS/vaca dia e 2,70; 1,32 e 2,06% PV, respectivamente. Neste experimento os animais removeram, em média, 39,4 cm do dossel forrageiro, o que corresponde a 44% de remoção da altura inicial do dossel. Esta é uma

medida importante, uma vez que remoção superior 50% da altura de entrada faz com que os animais diminuam significativamente a ingestão de matéria seca, devido a questões comportamentais (Carvalho et al., 2009).

Deresz et al. (2006), também trabalharam com capim elefante e relataram disponibilidade de 2400 kg de MS/ha e uma oferta de forragem de 20,03 kg de MS/vaca/dia referentes ao estrato pastejável nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro para vacas leiteiras mestiças. Estes valores não limitaram o consumo de MS dos animais segundo os autores.

Gomide et al.,(2001) avaliaram a produção de leite de vacas mestiças em pastagem de *Brachiaria decumbens*, sob duas ofertas diárias de forragem 4 e 8 kg de matéria seca de forragem verde (MSFV)/100 kg de peso vivo dos animais. A disponibilidade média durante o estudo foi de 3495 kg de MS/ha e o peso médio dos animais de 499 kg. O consumo médio diário de matéria seca (12,4 kg/vaca) e a produção de leite (11,0 kg/vaca/dia) não foram afetados pelas ofertas de pasto estudadas.

A produção de massa de forragem está diretamente relacionada com a adubação adotada, principalmente a carga de nitrogênio. Corsi e Nussio (1993) observaram valores lineares para a produção de massa de forragem utilizando doses de até 800 kg de N ha/ano.

Na tabela abaixo podem ser observadas a composição bromatológica da forragem e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Tabela 7. Composição bromatológica e digestibilidade *in vitro* da matéria seca do estrato pastejável do *Panicum maximum* cv. Mombaça, segundo o período experimental, para vacas leiteiras suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®)

Período	MS	% da matéria seca							
		PB	FDN	FDA	NIDA	Lignina	EE	Cinzas	DIVMS
1	19,5	16,2	65,1	32,6	0,76	3,8	3,6	11,2	65,9
2	19,5	15,7	62,6	34,1	0,46	3,8	3,7	10,2	66,6
3	18,7	15,7	67,1	34,9	0,61	3,4	4,5	11,7	63,8
4	18,1	16,4	64,9	33,9	0,51	3,3	4,7	10,9	66,5
Média	19,0	16,0	64,9	33,9	0,60	3,6	4,1	11,0	65,7

MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; NIDA = nitrogênio ligado a FDA; EE = estrato etéreo; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

A forrageira apresentou bom valor nutritivo em todos os períodos experimentais, caracterizado por reduzidos teores de FDN e lignina e elevados teores de proteína bruta. Isso é decorrente tanto do método de amostragem (estrato pastejável), quanto do manejo da pastagem, que combinou fertilização nitrogenada com desfolha da forrageira no ponto fisiológico adequado.

Segundo Martinez (2008) pastagens bem manejadas recebendo adubação nitrogenada entre 200 e 500 kg de N ha/ano e colhidas no ponto fisiológico ideal (95% IL) permitem o animal consumir forragem de alta qualidade, com teores de PB ao redor de 15

a 21% da MS. Neste experimento a média de PB da pastagem durante os períodos experimentais foi de 16% PB na MS, valor este superior aos relatados por outros autores que trabalharam com *Panicum maximum* cv. Mombaça em sistemas de pastejo rotativo (Cândido et al., 2005; Euclides et al., 2008). Entretanto foi semelhante aos encontrados por Bueno (2003), de 15,4%, e Pacheco Jr. (2009), de 16,5%. Normalmente, nas gramíneas tropicais, o teor de PB na matéria seca produzida está diretamente relacionado com a quantidade de nitrogênio aplicado (Alvim et al., 1999).

Boa parte da literatura diz que a proteína encontrada nesse tipo de capim é de rápida degradação ruminal e contém alta concentração de nitrogênio não protéico (NNP). Mas ao contrário do que normalmente é mencionado pela literatura de plantas tropicais, dados publicados por Romero (2008) sobre fracionamento da proteína encontrada no estrato pastejável de capim elefante manejados de acordo com o conceito de IL a 95%, mostram que a degradabilidade dessa proteína não é tão alta quanto se diz, já que apresenta elevadas proporções das frações B2 e B3. Colombini e Reis (2010) avaliaram forrageiras tropicais bem manejadas, inclusive *Panicum maximum* cv. Mombaça, e encontraram valores de 37,2% do nitrogênio total referente a nitrogênio solúvel; 21,1% referente a NNP; 43,1% referente ao nitrogênio ligado ao FDN (NIDN) e 5,0% referente ao nitrogênio ligado ao FDA (NIDA). Considerando um taxa de passagem (Kp) de 7% por hora, esta forrageira apresentou 54,9% no nitrogênio total como proteína não degradável no rúmen (PNDR).

Segundo Euclides (1995) para *Panicum maximum* Jacq., teores de FDN abaixo de 55% são raros, acima de 65% são comuns em tecidos novos e entre 75 e 80 % são encontrados em material vegetal mais maduro. A média de FDN do *Panicum maximum* cv. Mombaça neste experimento foi de 64,9%, o que demonstra que os animais tiveram acesso a forragem bem manejada, colhida no ponto certo.

As gramíneas tropicais apresentam baixos teores de carboidratos não fibrosos (CNF) que são raramente superiores a 20% dos carboidratos totais. Assim, a hemicelulose e celulose são responsáveis pela maior parte dos carboidratos fermentados no rúmen. Desse modo, a relação FDA/FDN e lignina/FDA são importantes de serem analisadas no que diz respeito ao valor nutritivo da planta forrageira. Forragens que apresentam baixos valores de FDA em relação à FDN e de lignina em relação à FDA possuem fração fibrosa com alto potencial de digestibilidade (Herling et al., 2005). Neste trabalho os valores médios de FDN/FDA e Lignina/FDA foram 0,52 e 0,11, respectivamente. Lopes et al. (2011) caracterizou o teor de nutrientes e a digestibilidade da fibra das principais gramíneas tropicais produzidas sob pastejo rotacionado incluindo o Mombaça, e observou relações de FDN/FDA e Lignina/FDA muito semelhantes às encontradas neste trabalho (0,56 e 0,12). Este mesmo autor encontrou médias de digestibilidade da FDN para incubação às 24, 30 e 48 horas de 36±13, 45±13 e 61±13%, respectivamente, entre as diferentes espécies forrageiras.

Os valores de FDN, FDA e lignina na MS foram muito próximos dos encontrados por Bueno (2003), 66,6; 36,7; 5,3; Pacheco Jr., (2009), 71,4; 37,7; 3,69; Lista (2007), 69,9;

29,01; 4,35, para amostras de extrusa e 63,48; 36,72; 3,11, para amostra de pastejo simulado, respectivamente.

O valor médio da DIVMS do capim foi de 65,5%, que juntamente com a relação FDN/FDA encontrada mostra que a forrageira foi colhida com valor nutritivo adequado. Bueno (2003) trabalhou com *Panicum maximum* cv. Mombaça e encontrou valores de DIVMS de 61,8%, enquanto Lista (2007) encontrou 53,8% para amostras de extrusa e 55,7% para amostra de pastejo simulado.

## 4.2 Consumo e digestibilidade aparente

Os consumos de pasto, concentrado, feno, MS, MO, PB e FDN podem ser observados na tabela 8, de acordo com o tratamento experimental. O consumo de MS total foi de  $20,20 \pm 0,04$  kg, próximo ao valor estimado pelo NRC (2001). Já o consumo de pasto médio foi 8,24kg de MS/dia e também esteve próximo ao esperado segundo a formulação da dieta pelo NRC (2001). Não foram observadas variações tanto na ingestão de MS quanto no consumo de pasto entre as dietas experimentais.

O consumo de pasto dos animais deste experimento, 8,4 kg/MS por dia, está abaixo da maioria dos trabalhos encontrados na literatura. Entretanto, isso pode ser explicado pelo efeito de substituição da pastagem pelo concentrado. A produção de leite por animal foi de aproximadamente 30 kg/dia, sendo que animais dessa categoria apresentam maior exigência para produção de leite e desta maneira só a oferta de volumoso não seria capaz de atender os requerimentos. Vacas em sistema de pastejo rotativo, quando suplementadas com concentrado, geralmente diminuem a ingestão de matéria seca oriunda da pastagem. Ocorre então o chamado efeito de substituição, em que os animais diminuem o consumo de matéria seca do pasto, mas aumentam o consumo de matéria seca total (Reis e Combs, 2000).

Sabbia (2011) utilizando a mesma proteína microbiana (DEMP®) em substituição ao farelo de soja, para animais confinados recebendo silagem de milho como volumoso, não observou variação no consumo entre os grupos experimentais, entretanto o consumo de MS total foi maior que o observado neste trabalho (variação de 25,9 a 27,1 kg/MS/dia), provavelmente devido ao maior peso corporal dos animais, tipo de dieta e sistema de alimentação adotado. Santos et al. (1998) em sua revisão, avaliaram 127 comparações e não encontraram diferença na ingestão de matéria seca (IMS) quando o farelo de soja foi substituído por fontes com alto teor de PNDR.

Os consumos de FDN total e de forragem foram acima do mínimo recomendado pelo NRC (2001) (25% de FDN total e 19% de FDN proveniente de forragens na MS) para todos os tratamentos. Contudo, vale ressaltar que os valores preconizados pelo NRC (2001), foram obtidos em sistemas de produção de leite em confinamento, cujo principal alimento volumoso é a silagem de milho. No caso dos sistemas a pasto, em que a forragem tropical é bem manejada, normalmente os valores de FDN e FDA encontrados estão acima das recomendações mínimas, e o FDN da forragem é geralmente de boa qualidade. Neste experimento, a amplitude de variação no consumo de MS em relação à %PV foi de 4,07 a 4,17%. Já o consumo de FDN variou entre 7,24 e 7,45 kg/dia, e o consumo de FDN em relação à % PV variou de 1,46 a 1,53%. O consumo de FDN variou 210 gramas/dia entre

os tratamentos, e o efeito quadrático dessa variável pode estar relacionada ao consumo de pasto, que mesmo não tendo apresentado efeito quadrático significativo, apresentou maiores valores numéricos para os tratamentos *DP150* e *DP300*. O consumo de FDN em relação a porcentagem do peso vivo também apresentou o mesmo comportamento, e isso pode ter ocorrido em função do maior consumo diário em quilos de FDN pelos tratamentos *DP150* e *DP300*. Danés (2010) trabalhando com vacas em pastejo rotacionado suplementadas com diferentes concentrações de PB no concentrado obteve consumo de MS em relação ao peso vivo semelhante, variando de 4,65 a 4,71%. García et al. (2010) verificaram amplitude de consumo de MS menores, 3,08 a 3,43% MS/PV, provavelmente devida a menor produção de leite das vacas. Este mesmo autor verificou amplitude de consumo de FDN para vacas leiteiras de 1,21 a 1,5% FDN/PV o que foi semelhante às encontradas neste trabalho. Estes valores de consumo de FDN em relação ao PV acima de 1,2% mostram que a forrageira tropical bem manejada possui FDN de boa qualidade e digestibilidade e por isso possibilita maior consumo de forragem pelos animais.

Na tabela 9 são apresentados os dados referentes à digestibilidade aparente da MS, MO e FDN da dieta; e eficiência alimentar.

Tabela 8. Consumo de pasto, concentrado, feno, MS, MO, PB e FDN por vacas leiteiras em pastejo suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®)

Variáveis	Diets experimentais					Valor de P	
	DP0	DP150	DP300	DP450	EPM	Linear	Quadrático
<i>kg MS</i>							
Pasto	8,18	8,23	8,38	8,17	0,04	0,69	0,19
Concentrado	11,55	11,54	11,49	11,47	0,02	0,92	0,27
Feno	0,42	0,42	0,42	0,43	0,00	1,00	0,99
MS	20,16	20,20	20,30	20,17	0,04	0,65	0,40
MO	18,36	18,36	18,47	18,35	0,04	0,70	0,53
PB	3,15	3,04	3,17	3,08	0,01	1,00	0,99
FDN	7,24	7,43	7,45	7,14	0,04	0,31	0,00
<i>%PV</i>							
MS	4,07	4,10	4,17	4,14	0,01	0,03	0,23
FDN	1,46	1,50	1,53	1,47	0,01	0,43	0,00

EPM = erro padrão da média, P = probabilidade.

MS = matéria seca; MO = matéria orgânica, PB = proteína bruta; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; PV = peso vivo.

DP 0 = tratamento controle (sem adição de DEMP®); DP 150 = substituição de 150 gramas de farelo de soja por 150 gramas de DEMP®; DP 300 = substituição de 300 gramas de farelo de soja por 300 gramas de DEMP®; DP 450 = substituição de 450 gramas de farelo de soja por 450 gramas de DEMP®.

Tabela 9. Digestibilidade aparente da MS, MO e FDN da dieta; e eficiência alimentar de vacas suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®) manejadas em pastejo intensivo.

Variáveis	Diets experimentais	Valor de P
-----------	---------------------	------------

	DP0	DP150	DP300	DP450	EPM	Linear	Quadrático
DA MS (%)	76,02	76,03	75,99	76,03	0,03	0,87	0,27
DA MO (%)	77,30	77,28	77,31	77,40	0,05	0,61	0,31
DA FDN (%)	60,31	60,70	60,84	59,89	0,36	0,89	0,45
EA (Leite/ IMS)	1,46	1,45	1,44	1,43	0,01	0,01	0,47

EPM = erro padrão da média, P = probabilidade.

IMS = ingestão de matéria seca; DA = digestibilidade aparente; MS = matéria seca; MO = matéria orgânica, FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; EA = eficiência alimentar.

DP 0 = tratamento controle (sem adição de DEMP®); DP 150 = substituição de 150 gramas de farelo de soja por 150 gramas de DEMP®; DP 300 = substituição de 300 gramas de farelo de soja por 300 gramas de DEMP®; DP 450 = substituição de 450 gramas de farelo de soja por 450 gramas de DEMP® .

Não foram observadas diferenças significativas para os valores de digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS), da matéria orgânica (DAMO) e da fibra insolúvel em detergente neutro (DAFDN), que variaram entre 75,99 a 76,03; 77,28 a 77,40; e 59,89 a 60,84, respectivamente. No trabalho de Guidi et al. (2007) a fonte e o teor de proteína não afetaram ( $p > 0,05$ ) as digestibilidades da matéria seca e da matéria orgânica das dietas.

A DAMS variou entre 75,99 a 76,03%, valor muito superior ao encontrado no trabalho de Sabbia (2011), que apresentou variação entre 49,3 a 53,2%, provavelmente devido à diferença de volumoso utilizado nos experimentos, já que no experimento deste autor foi utilizado silagem de milho como volumoso principal.

A eficiência alimentar apresentou efeito linear negativo em relação à adição de proteína microbiana na dieta, sendo que o tratamento controle apresentou eficiência alimentar de 1,46 e o tratamento *DP450* de 1,43. Os valores encontrados foram semelhantes aos encontrados por Guidi et al. (2007), que apresentaram variação entre 1,36 e 1,55, contudo estes autores trabalharam com animais confinados da raça Holandês. Logo, os valores de eficiência alimentar obtidos demonstram que vacas Girolando F1 em pastejo rotacionado podem ser tão eficientes quanto animais em confinamento em converter MS em produção de leite, desde que a forragem seja de qualidade e as necessidades de carboidratos não fibrosos (CNF) destes animais sejam atendidas.

A menor ingestão de matéria seca (IMS) e maior produção de leite no tratamento controle deste experimento culminaram com maior eficiência alimentar do mesmo.

### 4.3 Produção e composição do leite

Na tabela 10 são apresentados os dados de produção e composição do leite. A produção de leite teve efeito linear negativo conforme a inclusão da proteína microbiana (DEMP®) aumentou na dieta, sendo maior no tratamento *DP0* (29,41 kg/dia) em relação ao tratamento *DP450* (28,91 kg/ dia). Entretanto, quando se avalia a produção de leite corrigido para gordura a 3,5% (LCG), leite corrigido para energia (LCE) e para sólidos (LCS) não houve alterações significativas entre as dietas experimentais.

Segundo Santos et al. (1998) a substituição de farelo de soja por fontes proteicas alternativas ricas em PNDR na dieta de vacas leiteiras nem sempre promove aumento

consistente na produção de leite. Isso pode ocorrer devido a desequilíbrio na relação PDR e PNDR no rúmen ou até mesmo devido alteração no perfil de aminoácidos absorvidos. Na revisão realizada por estes autores, os 88 ensaios de produção (127 comparações) mostraram que a suplementação com fontes ricas em PNDR, em substituição parcial ou total ao farelo de soja, aumentou a produção de leite em apenas 17% dos casos. A suplementação com farelo de glúten de milho respondeu pela maioria dos resultados negativos.

Sabbia (2011) utilizando a mesma fonte de proteína de origem microbiana (DEMP®) na dieta de vacas em confinamento (16,1% PB e 1,56 Mcal/kg de energia líquida para lactação), substituindo por farelo de soja nas quantidades 0; 300; 600 e 900 gramas/dia, o que corresponde a 0; 1,14; 2,28 e 3,41% respectivamente da MS, não observou variação na produção de leite entre os tratamentos.

Tabela 10. Produção e composição de leite de vacas suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®) manejadas em pastejo intensivo.

Variáveis	Diets experimentais				Valor de P		
	DP0	DP150	DP300	DP450	EPM	Linear	Quadrático
PL (kg/dia)	29,41	29,35	29,38	28,91	0,12	0,01	0,29
Gordura (kg/dia)	1,04	1,02	1,04	1,03	0,01	0,70	0,84
Gordura %	3,52	3,52	3,54	3,56	0,00	0,27	0,92
Proteína (kg/dia)	0,90	0,90	0,90	0,88	0,00	0,07	0,42
Proteína %	3,09	3,09	3,07	3,07	0,00	0,69	0,80
Lactose (kg/dia)	1,40	1,39	1,39	1,38	0,01	0,02	0,52
Lactose %	4,74	4,75	4,74	4,77	0,00	0,48	0,54
Sólidos (kg/dia)	3,62	3,59	3,61	3,55	0,02	0,04	0,39
Sólidos %	12,27	12,28	12,28	12,32	0,00	0,22	0,97
ESD (kg/dia)	2,58	2,56	2,57	2,53	0,01	0,02	0,43
ESD %	8,74	8,76	8,73	8,76	0,00	0,42	0,85
LCG 3,5 (kg/d)	29,56	29,35	29,59	29,30	0,13	0,19	0,56
LCE (kg/d)	20,10	20,03	20,11	19,79	0,09	0,08	0,29
LCS (kg/d)	26,71	26,51	26,69	26,42	0,12	0,15	0,60
NUL (mg/dL)	14,74	14,93	14,12	14,37	0,16	0,47	0,98

EPM = erro padrão da média, P = probabilidade.

PL = produção de leite; ESD = estrato seco desengordurado; LCG 3,5= leite corrigido para 3,5% de gordura; LCE = leite corrigido para energia; LCS= leite corrigido para sólidos; NUL = Nitrogênio ureico no leite.

DP 0 = tratamento controle (sem adição de DEMP®); DP 150 = substituição de 150 gramas de farelo de soja por 150 gramas de DEMP®; DP 300 = substituição de 300 gramas de farelo de soja por 300 gramas de DEMP®; DP 450 = substituição de 450 gramas de farelo de soja por 450 gramas de DEMP® .

Muller (1998) comparando fontes de PDR com PNDR para vacas mantidas em pastagem produzindo 35 kg de leite por dia também não observou aumento na produção. Assim como Guidi et al. (2007) não observaram aumento na produção de leite de animais

confinados recebendo diferentes fontes ricas em PNDR e com média de produção de leite de 27,6 kg/dia.

Brito e Broderick (2007) testaram diferentes fontes protéicas em substituição ao farelo de soja. As fontes alternativas testadas foram uréia, farelo de algodão e farelo de canola. O consumo e a produção de leite foram substancialmente reduzidos quando uréia foi comparada as demais fontes de proteína verdadeira. Entretanto, não houve diferença na produção de leite quando farelo de soja foi comparado com as outras fontes de proteína verdadeira (farelo de canola e de algodão). Reeves et al. (1996) utilizando PNDR oriunda de farelo de canola tratado com formaldeído não observaram aumento na produção de leite quando vacas entre 17 e 23 kg de leite/dia foram suplementadas.

A produção de lactose, extrato seco desengordurado (ESD) e de sólidos totais no leite mas, não a porcentagem, apresentaram o mesmo comportamento da produção de leite, ou seja, efeito linear negativo com o aumento da proteína microbiana (DEMP®) na dieta. Tal resposta pode ter ocorrido uma vez que a lactose é responsável por boa parte da pressão osmótica dentro da glândula mamária e toda vez que a produção de leite aumenta sua produção também aumenta para manter este potencial osmótico. Entretanto, a porcentagem de lactose tende a não se alterar, justamente pelo fato descrito anteriormente. Até o presente momento, poucos estudos detectaram variação significativa na concentração de lactose no leite de vacas alimentadas com diferentes tipos de dietas, a menos que os animais estejam muito subnutridos (Sutton, 1989). Danés (2010) trabalhou com animais em pastejo avaliando diferentes concentrações de PB no concentrado e observou valores entre 4,41 e 4,52% de lactose no leite, valores próximos aos observados neste trabalho (4,74 a 4,77%). Já a produção de sólidos e ESD também diminuíram com a inclusão do produto na dieta devido à diminuição na produção de leite. Diminuindo a produção de leite pode ocorrer queda na produção de alguns sólidos, principalmente a lactose. No trabalho de Sabbia (2011) não houve diferença na produção e porcentagem de lactose, entretanto, como dito anteriormente neste mesmo trabalho não houve variação na produção de leite, por isso a produção de lactose permaneceu estável.

Não houve variação na produção e percentual de proteína no leite, assim como também não foi observado no trabalho de Sabbia (2011). Os valores de porcentagem de proteína no leite (variação de 3,07 a 3,09%) foram semelhantes aos descritos por Sabbia (2011) - (variação de 3,09 a 3,12%). Alterações na concentração de proteína do leite devido à manipulação da dieta podem ser realizadas, mas os resultados obtidos são pouco expressivos quando comparados com a gordura, por exemplo. Alterações de até 0,5% são possíveis de se alcançar manipulando a dieta (Jenkins e McGuire, 2006). Segundo o NRC 2001, para aumentar a proteína do leite através de manipulações na dieta é preciso melhorar o perfil de aminoácidos da proteína metabolizável, assim como reduzir o excesso de proteína na dieta, e aumentar o teor de carboidratos fermentáveis no rúmen. Santos et al. (1998) também sugeriram que a produção e o teor de proteína no leite são afetados principalmente pelo suprimento de proteína metabolizável e pelo perfil de aminoácidos essenciais que compõe esta proteína. Neste mesmo estudo, Santos e colaboradores demonstraram que, em 15 ensaios (29 comparações), a suplementação com fontes ricas em

PNDR em substituição parcial ou total ao farelo de soja, não resultou em benefícios consistentes no que se refere ao fluxo de proteína e aminoácidos essenciais para o duodeno e a síntese de proteína microbiana foi reduzida em 76% das comparações. O teor de proteína do leite foi reduzido em 22% das comparações, aumentado 5% e, não afetado nas 73% restantes com o fornecimento de fontes ricas em PNDR. Segundo Santos et al. (1998) a substituição de farelo de soja por fontes proteicas alternativas ricas em PNDR pode apresentar resultados variados uma vez que depende do tipo e qualidade da PNDR, do teor de PDR da dieta e da quantidade de energia.

Neste estudo, também não foram observadas variações na produção e percentual de gordura do leite. A porcentagem de gordura variou entre 3,52 e 3,56%. Segundo Sutton (1989) os principais fatores nutricionais que alteram a gordura do leite são: quantidade de alimento volumoso, proporção volumoso:concentrado, composição dos carboidratos da dieta, ingestão de lipídeos e frequência de alimentação. García (2007); Danés, (2010); Chagas, (2011) encontram valores médios de 3,44; 3,47; 3,39 % de gordura no leite de vacas produzindo 21,87; 19,19; 23,76 Kg de leite respectivamente, manejadas em pastejo rotativo de gramíneas tropicais. Corroborando com os dados obtidos neste trabalho Sabbia (2011) também não observou variação na produção e porcentagem de gordura do leite.

Neste experimento não houve diferença para as concentrações de NUL entre os tratamentos. Os valores obtidos variaram de 14,12 mg/dL no tratamento *DP300* a 14,93 mg/dL no tratamento *DP150*. Esses valores revelam que a adequação protéica da dieta foi alcançada e também que houve sincronismo entre energia e proteína. O sincronismo foi fruto de constante matéria orgânica fermentável no rúmen, do fracionamento do trato concentrado três vezes ao dia e da escolha de fontes de carboidrato do concentrado com taxas de degradação distintas (como o milho e a polpa cítrica, por exemplo), fazendo com que houvesse aporte de energia para os microrganismos do rúmen com maior constância. O monitoramento do nitrogênio uréico do leite (NUL) é uma das ferramentas que permitem acompanhar a adequação protéica da dieta. O excesso de nitrogênio da dieta é transformado em uréia pelo fígado e eliminado pelos rins. Por ser uma molécula pequena facilmente chega até a glândula mamária através da corrente sanguínea. Logo teores mais elevados de NUL são indicativos de excesso de nitrogênio na dieta ou uso ineficiente do mesmo (Broderick e Huhtanen, 2007). O fato de não ter havido diferença entre as dietas experimentais para os valores de NUL mostra que também não houve diferença quanto a liberação do nitrogênio no rúmen entre o farelo de soja e o *DEMP®*. Danés (2010) realizou um trabalho visando adequar a concentração de PB no concentrado de vacas em pastejo (8,7; 13,4 e 18,1% de PB na MS do concentrado) e observou diferença significativa nos valores de NUL quando o teor de PB do concentrado aumentou. Os valores de NUL foram 8,34; 10,41 e 13,34 mg/dL, respectivamente. Estes resultados reafirmam que o excesso de N na dieta está intimamente relacionado com o aumento no nitrogênio uréico do leite. Nousiainen et al. (2004) avaliaram 306 tratamentos de 50 ensaios conduzidos na Finlândia e Suécia com o objetivo de avaliar o NUL como ferramenta de diagnóstico da proteína da dieta. Os autores chegaram a equações de regressão e segundo eles a PB da dieta responde pela maior parte da variação do NUL (cerca de 77%). O NUL também apresenta elevada

correlação com excreção de nitrogênio na urina (Broderick e Huhtanen, 2007) e, portanto, também tem sido utilizado para estimativas de perda de nitrogênio no ambiente. (Huhtanen e Hristov, 2009).

#### 4.4. Derivados de purina e balanço de nitrogênio

A produção de derivados de purina não foi afetada pelas dietas experimentais, como pode ser visto na tabela 11.

Hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína, coletivamente referidos como derivados de purina, são produtos do catabolismo das purinas excretados na urina de ruminantes, sendo a alantoína o principal deles. Os derivados de purina originam-se de duas fontes, as purinas absorvidas no intestino delgado e as endógenas, ou seja, liberadas do metabolismo dos ácidos nucléicos (Chen e Gomes, 1992). Considera-se que o fluxo duodenal de ácidos nucléicos é essencialmente de origem microbiana e que adenina e guanina, após a digestão intestinal, são catabolizadas pelo fígado e excretadas na urina como derivados de purina (Lopes e Santana, 2005; Valadares Filho et al., 2006).

Segundo Chen e Gomes (1992), na urina de bovinos, apenas alantoína e ácido úrico estão presentes, devido à grande atividade de xantina oxidase no sangue e nos tecidos, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico antes da excreção.

Ao estimar os derivados de purina estamos indiretamente medindo a produção microbiana dentro do rúmen. Broderick e Merchen (1992) recomendaram a utilização de derivados de purina e nitrogênio marcado como indicadores para medir a produção de biomassa microbiana. A excreção de derivados de purinas constitui um método simples e não-invasivo para estimar a produção de proteína microbiana no rúmen, utilizando coletas de urina com duração de 24 horas. Além disto, é possível estimar o volume urinário com uma única amostra de urina conforme descrito por Valadares et al. (1999). Para que a estimativa diária do fluxo de proteína microbiana seja feita, através da relação derivados de purina e creatinina na urina, é necessário assumir que a excreção diária de creatinina pelo animal seja uma constante.

Na revisão de Santos et al. (1998) quando farelo de soja foi substituído por fontes proteicas ricas em PNDR houve decréscimo na síntese de proteína microbiana em 22 das 29 comparações. Segundo os autores isso pode ter ocorrido devido a limitação de PDR para crescimento microbiano no rúmen.

Tabela 11. Relação purinas/creatinina de vacas em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®)

Variável	Dietas experimentais				Valor de P		
	DP0	DP150	DP300	DP450	EPM	Linear	Quadrático
Purinas/Creat	0,356	0,347	0,341	0,334	0,00	0,63	0,87

EPM = erro padrão da média; P = probabilidade.

Purinas/ Creat = concentração de purinas totais (alantóina + ácido úrico) divididos pela concentração de creatinina.

DP 0 = tratamento controle (sem adição de DEMP®); DP 150 = substituição de 150 gramas de farelo de soja por 150 gramas de DEMP®; DP 300 = substituição de 300 gramas de farelo de soja por 300 gramas de DEMP®; DP 450 = substituição de 450 gramas de farelo de soja por 450 gramas de DEMP® .

Na tabela 12 é apresentado o balanço de nitrogênio das vacas nas diferentes dietas experimentais.

Tabela 12. Balanço de nitrogênio de vacas em pastejo suplementadas ou não com proteína de origem microbiana (DEMP®).

Variáveis	Dietas experimentais					Valor de P	
	DP0	DP150	DP300	DP450	EPM	Linear	Quadrático
<i>g/d</i>							
N urina	98,29	81,41	86,44	86,18	0,17	1,00	0,99
NNP leite	8,65	8,72	8,31	8,31	0,00	0,13	0,62
N fezes	135,63	134,83	136,31	133,34	0,00	0,99	0,99
N consumido	504,98	488,52	508,37	492,74	0,00	1,00	0,99
N retido	128,72	130,71	144,00	134,54	0,00	0,23	0,27
N leite	142,32	141,55	141,61	138,66	0,00	0,03	0,31
<i>% Consumido</i>							
N leite	28,17	29,01	27,90	28,16	0,00	0,18	0,28
N fecal	26,85	27,60	26,83	27,06	0,00	0,74	0,41
N urina	16,46	16,67	17,01	17,48	0,00	1,00	0,99
<i>EUN %</i>	28,17	29,00	27,89	28,15	0,17	0,18	0,28

EPM = erro padrão da média; P = probabilidade.

N = nitrogênio; NNP = nitrogênio não protéico; EUN = eficiência de utilização do nitrogênio.

DP 0 = tratamento controle (sem adição de DEMP®); DP 150 = substituição de 150 gramas de farelo de soja por 150 gramas de DEMP®; DP 300 = substituição de 300 gramas de farelo de soja por 300 gramas de DEMP®; DP 450 = substituição de 450 gramas de farelo de soja por 450 gramas de DEMP®.

Após chegar na corrente sanguínea e ser transformado em uréia no fígado, o excesso de nitrogênio pode ser reciclado através do rúmen ou saliva, ou ser excretado principalmente através de fezes e urina.

Não houve diferença na quantidade de N excretado na urina e nas fezes. Danés (2010) também não observou diferença na quantidade de nitrogênio excretado nas fezes. Também não houve diferença no nitrogênio excretado na forma de NNP no leite, no N retido no corpo do animal e N consumido. Na revisão de Santos et al. (1998) a ingestão de N não se modificou quando farelo de soja foi substituído por fontes proteicas ricas em PNDR. Ipharraguerre et al. (2005) também não observaram diferença no consumo de N quando farelo de soja foi substituído por outros produtos oriundos da soja que contém elevados teores de PNDR (variação de 567 a 622 gramas/dia). Neste trabalho a variação no consumo de N foi de 488 a 508 gramas/dia.

Em relação ao N consumido não houve diferença para a porcentagem do que foi excretado nas fezes, no leite e na urina.

A eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) é uma ferramenta muito importante para verificação da utilização deste nutriente pelo animal e assim minimizar desperdícios. Entretanto, a dinâmica do nitrogênio no organismo animal é complexa, e envolve fatores ainda pouco estudados como a secreção de nitrogênio endógeno e reciclagem interna do mesmo. Pouco progresso tem sido conseguido no aumento da EUN. Stone et al. (1960) relataram uma EUN média de 23,7% nos rebanhos leiteiros dos EUA. Já Huhtanen e Hristov (2009), em uma metanálise, sobre o efeito do teor e degradabilidade da PB no desempenho de vacas leiteiras observaram valor de 24%. Segundo estes autores a melhor ferramenta para evitar perdas de nitrogênio para o ambiente continua sendo não super alimentar os animais com proteína bruta. Não houve diferença na EUN entre os tratamentos, variando de 27,89 a 29%. Neste experimento os animais produziram em média 29,26 kg de leite/dia, e segundo Huhtanen e Hristov (2009) quanto maior a produção de leite dos animais mais eficientes eles são em utilizar o nitrogênio. Mulligan et al. (2004) também afirmam que vacas de alta produção em pastejo intensivo quando suplementadas com baixa concentração proteica são mais eficientes na utilização do nitrogênio, diminuindo assim a excreção no ambiente sem alterar a produção de leite. Além disso, a concentração de PB das dietas deste experimento foram de 15,6%. Este valor está bem próximo aos de trabalhos de pesquisas que preconizaram 16,5% PB como valor de melhor eficiência na utilização do nitrogênio (Olmos Colmenero e Broderick, 2006). Esses dados sugerem que animais mantidos em pastagens tropicais bem manejadas podem ser tão eficientes quanto animais em confinamento em utilizar o N da dieta, reduzindo assim os custos alimentares e a poluição ambiental.

#### 4.5. Parâmetros sanguíneos

Na tabela 13 são apresentadas a concentração de glicose plasmática em função do tratamento e do tempo após o fornecimento de concentrado.

Tabela 13. Concentração de glicose plasmática em função do tempo após o fornecimento do concentrado de vacas manejadas em pastejo rotacionado e suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®)

Variáveis (mg/dL)	Dietas experimentais					Valor de P	
	DP0	DP150	DP300	DP450	EPM	Linear	Quadrático
Glicose T0	54,38	54,05	53,28	55,21	0,36	0,78	0,30
Glicose T2	52,67	53,38	51,52	54,03	0,60	0,58	0,53
Glicose T4	51,62	52,50	51,97	53,75	0,68	0,28	0,98
Glicose T6	53,24	53,31	51,88	52,18	0,87	0,54	0,99

EPM = erro padrão da média, P = probabilidade

Glicose T0, T2, T4, T6 = concentração de glicose plasmática em função do tempo em horas (0,2,4,6) após fornecimento do concentrado

DP 0 = tratamento controle (sem adição de DEMP®); DP 150 = substituição de 150 gramas de farelo de soja por 150 gramas de DEMP®; DP 300 = substituição de 300 gramas de farelo de soja por 300 gramas de DEMP®; DP 450 = substituição de 450 gramas de farelo de soja por 450 gramas de DEMP®.

Neste trabalho a concentração plasmática de glicose não sofreu alterações significativas conforme as dietas experimentais e nem com o tempo após o fornecimento do concentrado. Os valores encontrados variam de 51,52 até 55,21mg/dL, e estão dentro da faixa de referência proposta por Rebhun e Guard (2000) para vacas lactantes (entre 45,0 a 75,0 mg/dL). Em ruminantes a glicose plasmática tende a permanecer relativamente estável e não sofre grandes variações.

No trabalho de Guidi (2007) a concentração de glicose plasmática também não foi afetada ( $p > 0,05$ ) pelo teor e fonte de proteína na dieta, concordando com os resultados de outros experimentos, em que o farelo de soja foi comparado a fontes ricas em PNDR como a soja tostada (Pires et al., 1996).

Schor e Gagliostro (2001) avaliando a suplementação de PNDR (farelo de soja ou farinha de sangue) para vacas no início da lactação, em condições de pastejo, não encontraram diferença na concentração de glicose plasmática.

Os valores encontrados por Sabbia (2011) variam de 59,7 a 68,9 mg/dL entre os tratamentos experimentais, e também não apresentaram diferença.

Na tabela 14 são apresentados os valores de nitrogênio uréico no plasma de cada dieta experimental em função do tempo após o fornecimento do concentrado.

O sincronismo entre proteína e energia no rúmen é importante para maximizar a fermentação ruminal e sua eficiência pode ser medida pela concentração de nitrogênio uréico no plasma (Oliveira et al., 2008). Quando as dietas não estão bem balanceadas, ou seja, com excesso de proteína ou falta de energia, o sincronismo pode ser prejudicado, e com isso o excesso de amônia produzido no rúmen pode atingir a circulação sanguínea, onde será convertida em uréia. Os processos de conversão de amônia em uréia no fígado e de excreção de uréia na urina implicam gasto energético pelo animal (Church, 1988).

Tabela 14. Concentração de nitrogênio uréico no plasma (NUP) em função do tempo após o fornecimento do concentrado de vacas manejadas em pastejo rotacionado e suplementadas ou não com fonte de proteína microbiana (DEMP®)

Variáveis (mg/dL)	Dietas experimentais				Valor de P		
	DP0	DP150	DP300	DP450	EPM	Linear	Quadrático
NUP T0	18,07	17,26	17,01	18,53	0,78	0,67	0,10
NUP T2	20,66	20,32	19,69	19,59	0,44	0,07	0,78
NUP T4	19,69	19,75	19,26	19,54	0,61	0,76	0,94
NUP T6	19,38	18,83	18,54	19,11	0,44	0,59	0,26

EPM = erro padrão da média, P = probabilidade.

NUP T0, T2, T4, T6 = nitrogênio uréico no plasma em função do tempo em horas (0,2,4,6) após fornecimento do concentrado

DP 0 = tratamento controle (sem adição de DEMP®); DP 150 = substituição de 150 gramas de farelo de soja por 150 gramas de DEMP®; DP 300 = substituição de 300 gramas de farelo de soja por 300 gramas de DEMP®; DP 450 = substituição de 450 gramas de farelo de soja por 450 gramas de DEMP®.

A concentração de nitrogênio uréico no plasma dos ruminantes está diretamente relacionada com o consumo e eficiência de utilização da proteína da dieta, amônia ruminal e NUL (Hammond,1997). Segundo Broderick e Clayton (1997) os teores de nitrogênio

uréico no plasma são afetados principalmente pelos teores de PB da ração. Os valores de NUL são positivamente correlacionados com os valores de NUP (nitrogênio uréico no plasma). Broderick e Clayton (1997) observaram coeficiente de determinação de 84,2% para modelo de estimativa de NUL a partir de NUP.

Neste experimento não houve diferença nos valores de NUP, assim como não houve para nitrogênio uréico no leite (NUL). Os valores de NUL aliados aos de NUP demonstram que as dietas experimentais não apresentavam excesso de PDR e também que a quantidade de matéria orgânica fermentável no rúmen foi suficiente para adequada utilização do N da dieta pelos microrganismos.

Schor e Gagliostro (2001) não encontraram diferença na concentração de nitrogênio uréico no plasma, entretanto, os valores observados por estes autores foi maior (variação de 24,1 a 28,2 mg/dL) do que os obtidos neste trabalho (variação de 17,01 a 20,66 mg/dL).

Zimmerman et al. (1992) avaliaram os efeitos da proteína total e não degradável no rúmen em dietas de baixa fibra para vacas em lactação. Como esperado, os valores de uréia no sangue foram maiores para as dietas que apresentaram maior concentração de PB, tanto nas primíparas quanto nas múltiparas.

## 5.0 Conclusões

A substituição do farelo de soja por proteína de origem microbiana (DEMP®) para vacas leiteiras Girolando F1, em pastejo rotacionado, não foi capaz de aumentar a produção de leite e sólidos dos animais.

Os valores de eficiência alimentar obtidos mostram que animais a pasto podem ser tão eficientes quanto animais em confinamento, em converter MS em leite, desde que a forragem seja de ótima qualidade e o animal tenha adequados teores de carboidratos não fibrosos na dieta (CNF). Além disso, os valores para eficiência de utilização do nitrogênio foram considerados elevados, variando de 27,89 a 29%, que aliados aos teores de NUL obtidos neste experimento mostram que é possível ser extremamente eficiente quanto ao uso do nitrogênio, para animais com produção de 30 kg de leite dia, manejados em pastejo rotacionado de boa qualidade, desde que a dieta esteja balanceada adequadamente. O uso de fontes protéicas oriundas de leveduras para vacas em início de lactação com alta produção de leite, mantidas em pastagens tropicais, é assunto ainda pouco estudado. Logo mais pesquisas nessa área são demandadas, principalmente devido ao aparecimento de novas tecnologias na nutrição proteica de vacas de alta produção.

## 6.0 Referências bibliográficas

AGLE, M., HRISTOV, A. N., ZAMAN, S. et al. The effects of ruminally degraded protein on rumen fermentation and ammonia losses from manure in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.93, p.1625–1637. 2010.

AGUIAR, A. P. A.; SILVA, A. M. Calagem e adubação da pastagem. In: FORRAGICULTURA E PASTAGENS: TEMAS EM EVIDÊNCIA, 5, 2005, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: Editora UFLA, 2005. 349p.

ALVIM, M. J., FERREIRA, D. X., SILVA, V. S. et al. Resposta do Tifton 85 a doses de nitrogênio e intervalo de cortes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n.12, p. 2345-2352, 1999.

AROEIRA, L.J.M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras, **Anais...** Lavras: UFLA – FAEP, 1997. p. 127-163.

AROEIRA, L.J.M.; LOPES, F.C.F.; DERESZ, F. et al. Pasture availability and dry matter intake of lactating crossbred cows grazing elephant grass (*Pennisetum purpureum*, Schum.). **Animal Feed Science and Technology**, v.78, p.313-324, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. Official methods of analysis. 15 ed. Arlington; 1990. v.1, 1117p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC Official methods of analysis. 16.ed. Washington: AOAC, 1995. 2000p.

BALSALOBRE, M.A.A. **Desempenho de vacas em lactação sob pastejo rotacionado de Capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.)**. Piracicaba, 1996, 139 p. Dissertação (mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

BALSALOBRE, M.A.A. **Valor alimentar do capim Tanzânia irrigado**. Piracicaba, 2002, 113 p. Tese (doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

BARBOSA, R.A.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES, V.P.B. et al. Capim Tanzânia submetido a combinações entre intensidade e frequência de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 329-340, 2007.

BEQUETTE, B. J.; BACKWELL, F. R. C.; CROMPTON, L. A. Crompton. Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.9, p.2540-2559, 1998.

BLASER, R.E. Pasture – animal management to evaluate plants and to develop forage systems. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 9., Piracicaba, 1988. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 1988. p. 1-40.

BRAGA, G.J. **Resposta do capim Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) a diferentes doses de nitrogênio e intervalos de corte**. Pirassununga, 2001. 122 p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

BRITO, A. F., BRODERICK, G. A. Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.1816–1827, 2007.

BRODERICK, G. A. Can cell-free enzymes replace rumen microorganisms to model energy and protein supply? In: DEAVILLE, E. R.; OWENS, E.; ADESOGAN, A. T. et al (Eds.). **In vitro techniques for measuring nutrient supply to ruminants**. Edinburgh: British Society of Animal Sciences, 1998. p. 99-114. (Occasional Publication No. 22).

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

BRODERICK, G.A. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1370-1381, 2003.

BRODERICK, G.A.; HUHTANEN, P. Application of milk urea nitrogen. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES. 2007. Syracuse **Proceedings**... Syracuse, 2007. p. 185-193.

BRODERICK, G.A.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.9, p.2618-2632, 1992.

BRODERICK, G. A.; WALLACE, R.J. Effects of dietary nitrogen source on concentrations of ammonia, free amino acids and fluorescamine-reactive peptides in the sheep rumen. **Journal of Animal Science**, v.66, p. 2233-2238, 1988.

BRODERICK, G. A.; WALLACE, R.J.; ORSKOV, E.R. Control of rate and extent of protein degradation. In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. (Eds.). **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. Orlando, FL: Academic Press, 1991. p. 541-592.

BUENO, A. A. O. **Características estruturais do dossel forrageiro, valor nutritivo e produção de forragem em pastos de capim Mombaça submetidos a regime de desfolhação intermitente**. 2003. 124 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2003.

BUTLER, W.R.; CALAMAN, J.J.; BEAN, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, n.4, p.858-865, 1996.

CÂNDIDO, M. J. D.; ALEXANDRINO, E.; GOMIDE, C. A. M. et al. Período de descanso, valor nutritivo e desempenho animal em pastagem de *Panicum maximum* cv. Mombaça sob lotação intermitente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5., p. 1459-1465, 2005.

CARNEVALLI, R.A. **Dinâmica da rebrotação de pastos de capim-Mombaça submetidos a regimes de desfolhação intermitente**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003. 149p. Tese (Doutorado em Agronomia – Ciência Animal e Pastagens -Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.

CARVALHO, P.C.F. et al. Consumo de forragem por animais em pastejo: analogias e simulações em pastoreio rotativo. In: DA SILVA, S.C. et al. (Eds). **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM - Intensificação de Sistemas de Produção Animal em Pasto**, 25., 2009, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2009. p.61-93.

CECATO, U.; MACHADO, A.O.; MARTINS, E.N. et al. Avaliação da produção de algumas características da rebrota de cultivares e acessos de *Panicum Maximum* Jacq. sob duas alturas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 660-668, 2000.

CHAGAS, L. J. **Teor de proteína no concentrado de vacas no terço inicial da lactação mantidas em pastagens de capim elefante**. 2011, 79 p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

CHALUPA, W.; SNIFFEN, C. J. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle in dairy nutrition management. **Veterinary Clinics of North America**, v.7, n.2, 353-372, 1991.

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. 1993. INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. ROWETT RESEARCH INSTITUTE. Aberdeen, UK. 21 p, 1993.

CHIZZOTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Excreção de creatinina em vacas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: 2004a. CDROM. Nutrição de ruminantes.

CHOI, C. W.; VANHATALO, A.; AHVENJARVI, S. et al. Effects of several protein supplements on flow of soluble non-ammonia nitrogen from the forestomach and milk production in dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, v. 102, p.15-33, 2002.

CHURCH, D. C. **The Ruminant Animal**. Digestive Physiology and Nutrition. 1 ed. Waveland Press Inc., Long Grove, IL. 1988.

CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 2304–2323, 1992.

CLIPES, R.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; DETMANN, E. et al. Avaliação de métodos de amostragem em pastagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) e capim Mombaça (*Panicum maximum*, Jacq) sob pastejo rotacionado. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.57, n.1, p.120-127, 2005.

COLOMBINI, S.; REIS, R.B.; BRODERICK, G.A. et al. Rumen protein degradability in tropical grasses: Comparison of results obtained using fluorimetric or colorimetric O-phthalaldehyde assays for degradation products. In: EAAP INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENERGY AND PROTEIN METABOLISM AND NUTRITION, 3., Parma, Itália, 2010. [**Proceedings...**]. [s.l.]: Wageningen Academic, 2010. (EAAP Publication, 127). p. 727-728.

CORREIA, P. S. **Estratégias de suplementação de bovinos de corte em pastagens durante o período das águas**. 2006. 333p. Dissertação (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

CORSI, M. Adubação nitrogenada das pastagens. In: PEIXOTO, A.M. **Pastagens: Fundamentos da exploração racional**. Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 121-153.

CORSI, M., NUSSIO, L.G. Manejo do capim-elefante: Correção e adubação do solo. In: Simpósio sobre Manejo de Pastagem, 10, 1993, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1993. p.87-115.

CORSI, M. Pastagens de alta produtividade. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 8.,1986, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1986. p.499-512

CORSI, M. Produção e qualidade de forragens tropicais. In: SBZ (ed.) **NOVAS TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO ANIMAL**. Piracicaba: FEALQ, 1990. p. 177 – 193.

CORSI, M.; SANTOS, P.M. Potencial de produção de Panicum maximum. In: SIMPÓSIO SOBRE O MANEJO DA PASTAGEM, 12., Piracicaba, 1995. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1995. p. 275-304.

DANÉS, M.A.C. **Teor de proteína no concentrado de vacas em lactação mantidas em pastagem de capim elefante**. Dissertação (mestrado). 2010. p.117. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

DEREZ F.; PAIM COSTA M. L.; COSER A. C. et al. Composição química, digestibilidade e disponibilidade de capim-elefante cv. Napier manejado sob pastejo rotativo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35 n.3, p.863-869, 2006.

DEREZ F. Produção de leite de vacas mestiças holandês x zebu em pastagens de Capim-Elefante, manejada em sistema rotativo com e sem suplementação durante a época das chuvas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.1, p.197-204, 2001.

DE PETERS, E. J.; FERGUSON, J. D. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3192-3209, 1992.

DRUMOND, L.C.D.; AGUIAR, A.P.A. Irrigação de pastagem. 1. ed. Uberaba: Universidades Associadas de Uberaba/FAZU, 2005. 210p.

ERFLE, J.D.; SAUER, F.D.; MAHADEVAN, S. Effect of ammonia concentration on activity of enzymes of ammonia assimilation and on synthesis of amino acids by mixed rumen bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, 60: 1064-1072, 1977.

EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; ZIMMER, A. H. et al. Avaliação dos capins mombaça e massai sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n.1., p.18-26, 2008.

EUCLIDES, V.P.B. Valor alimentício de espécies forrageiras do gênero *Panicum*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 12., Piracicaba, 1995. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 1995. p. 245-274.

FAVERDIN, P.; M'HAMED, D.; VERITE, R. Effects of metabolizable protein on intake and milk production of dairy cows independent of effects on ruminal digestion. **Animal Science**, v.76, p.137-146, 2003.

FEDDING the world. In: FAO STATISTICAL YEAR BOOK 2013. Rome: FAO, 2013.

GARCÍA, G.A.G. **Desempenho de vacas leiteiras em pastagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) suplementado com diferentes fontes de carboidratos**. 2007. p.62 Dissertação (Mestrado), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2007.

GOMIDE, J.A., WENDLING, I.J., BRÁS, S.P., QUADROS, H.B. Consumo e produção de leite de vacas mestiças em pastagem de *Brachiaria decumbens* manejadas sob duas ofertas diárias de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa – MG, v.30, n.4, p. 1194-1200, 2001.

GRUMMER, R.R. et al. Soybeans versus animal sources of rumen-undegradable protein and fat for early lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1809-1816. 1996.

GUIDI, M.T.; SANTOS, F.A.P.; BITTAR, C.M.M. et al. Efeito de fontes e teores de proteína sobre digestibilidade de nutrientes e desempenho de vacas em lactação. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v.29, n.3, p.325-331, 2007.

HAMMOND, A.C. Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1997. Gainesville: University of Florida. *Proceedings...* Disponível na Internet: <http://www.ifas.ufl.edu/~dairyweb/pub/symp.htm>.

HERLIG, V. R.; LUZ, P. H. C. ANCHÃO, P. P. O. MARCHESIN, W. A. MACEDO, F. B. ALVES, A. C. Manejo do pasto com vistas a maximizar a produção de ruminantes. In: VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES, 2005, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 2005. p. 125-158

HODGSON, J. Grazing management – Science into practice. New Zeland: Longman Scientific e Technical, 1990. 203 p.

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**, v.92, p.3222–3232. 2009.

HUHTANEN, P.; HRISTOV, A. N. Estimating passage kinetics using fibrebound 15N as an internal marker. **Animal Feed Science and Technology**, v. 94, p. 29-4, 2001.

HUME, I. D. Synthesis of microbial protein in the rumen. III. The effect of dietary protein. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 21, p. 305–314. 1970.

HUMPHREYS, L.R. Tropical pasture utilization. Australia: Cambridge University Press, 1991. 533p.

JENKINS, T.C.; McGUIRE, M.A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.89, n. 4, p.1302-1310.2006.

JOUANY, J. P.; USHIDA, K. The role of protozoa in feed digestion. Review. **AJAS** 12, p.113– 128, 1999.

IMAIZUMI, H.; SANTOS, F.A.P.; BITTAR, C.M.M. et al. Diet crude protein content and sources for lactating dairy cattle. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.67, n.1, p. 16-22, 2010.

IPHARRAGUERRE, I.R.; CLARK, J.H. Impacts of the source and amount of crude protein on the intestinal supply of nitrogen fractions and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 22-37, Supplement. 2005.

KALSCHEUR, K.F.; BALDWIN, R.L.; GLENN, B.P. et al. Milk production of dairy cows fed differing concentrations of rumen-degraded protein. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 249-259, 2006.

KONH, R.A.; KALSCHEUR, K.F.; RUSSEK-COHEN.; Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.85, p. 227-233, 2002.

KOPECNY, J.; WALLACE, J.R. Cellular location and some properties of proteolytic enzymes of rumen bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** v 43, p.1026– 1033, 1982.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2002.140p.

LENKEIT W.; BECKER M. Inspeção e apreciação de forragens. Lisboa. Ministério da Economia de Portugal, 1956.152p.

LISTA, F. N.; SILVA, J. F. C.; VÁSQUEZ, H. M. et al. Avaliação nutricional de pastagens de capim-elefante e capim-mombaça sob manejo rotacionado em diferentes períodos de ocupação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n.5., p. 1406-1412, 2007.

LOPES, C.J. Nutrient composition and fiber digestibility measurements of tropical forages collected from intensively managed rotational grazing systems. 2011 131p. Dissertação (Mestrado - Dairy Science) University of Wisconsin, Madison, 2011.

LOPES, D.C.; SANTANA, M.C.A. Determinação de proteína em alimentos para animais: métodos químicos e físicos. Viçosa: UFV, 2005. 98p.

MAGALHÃES, K. A.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. et al. Produção de proteína microbiana, concentração plasmática de uréia e excreções de uréia em novilhos alimentados com diferentes níveis de uréia ou casca de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n.4., p.1400-1407, 2005.

MALAFAIA, P.A.M. et al. Determinação e cinética ruminal das frações protéicas de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 6, p.1243- 1251, 1997.

MARTINEZ, J.C. **Avaliação de co-produtos na alimentação de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais durante a estação chuvosa e alimentadas no cocho durante a estação seca do ano.** 2008. 351 p. Tese de (Doutorado em ciência animal e pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MILLIGAN, L.P.; GROVUM, W.L.; DOBSON, A. (Ed.) *Control of digestion and metabolism in ruminants*. Prentice-hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA, p.122-136, 1986.

MINSON, D.J. **Forage in Ruminant Nutrition.** New York: Academic Press, 1990. 483p.

MOTEIRO, F. A.; EUCLIDES, V. P. B. Adubação de plantas forrageiras com ênfase na produção e qualidade forrageira. In: **VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES**, 2005, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 2005. p. 159-186

MOURA, A.M. **Milho diferindo no processamento para vacas leiteiras em pastejo.** 2013. 78 p. Dissertação (Mestrado), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2013.

MULLER, L.D.; FALLES, S.L. Supplementation of cool-season grass pasture for dairy cattle. Page 335 In: J.H. CHERNEY AND D.J.R. CHERNEY, eds. *Grass for dairy cattle*. CAB International, Oxon, UK. 1998, p-335.

MULLIGAN, F.J.; DILLON, P.; CALLAN, J.J. et al. Supplementary concentrates types affects nitrogen excretion of grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3451-3460, 2004.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. *Nutrients requirements of dairy cattle.* 7.ed. Washington: Natl. Acad. Sc., 408p. 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient Requirements of dairy cattle. 6.ed. Washington : Natl. Acad. Sc., 1989.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of poultry. 9.ed. Washington, DC., 155p. 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient Requirements of Swine. 10. ed. National Academy Press, Washington, DC. 189p. 1998.

NOUSIAINEN, J.; SHINGFIELD, K.J.; HUHTANEN, P. Evaluation of Milk Urea Nitrogen as a Diagnostic of Protein Feeding. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.386-398, 2004.

OLIVEIRA, J. P. P. **Desempenho de vacas mestiças (Holândes X Gir) em pastejo rotacionado, de *Panicum maximum* cv. Mombaça suplementadas com diferentes fontes de carboidratos e proteína não degradável no rúmen.** Belo Horizonte. 2011. 62 p. Dissertação(Mestrado)– Escola de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2011.

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

ORSKOV, E.R. **Protein nutrition in ruminants.** San Diego: Academic Press, 1992. 175p.

OWENS, F.N.; ZINN, R. Protein metabolism of ruminant animals. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition.** Prentice Hall, New Jersey – USA, p. 227-249, 1988.

PACHECO JUNIOR, A.J.D. **Valor nutritivo e cinética ruminal de gramíneas tropicais manejadas intensivamente.** 2009. 192p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PACIULLO, D. S. C. Características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas forrageiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 357-364, 2002.

PACIULLO, D.S.C.; DERESZ, F.; LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; MORENZ, M.J.F.; VERNEQUE, R.S. Disponibilidade de matéria seca, composição e consumo de forragem em pastagem de capim-elefante nas estações do ano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.904-910, 2008.

PENATI, M. A. **Estudo do desempenho animal e produção do capim-tanzânia (*Panicum maximum* Jacq.) em um sistema rotacionado de pastejo sob irrigação em**

**três níveis de resíduo pós-pastejo.** Piracicaba, 2002. p.117 Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2002.

PEREIRA, F.R. **Teores de proteína bruta para vacas leiteiras lactentes em pastejo de capim elefante (*Pennisetum purpureum Schum.*).** 2005. p.60. Dissertação (Mestrado), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2005.

PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Síntese de proteína microbiana e concentrações de uréia em vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1552-1559, 2006.

PINTO, J.C.; GOMIDE, J.A.; MAESTRI, M. Produção de matéria seca e relação folha:caule de gramíneas forrageiras tropicais, cultivados em vasos, com duas doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.23, p. 433-440, 1994.

PIRES, A.V. et al. Roasted soybeans, blood meal, and tallow as sources of fat and ruminally undegradable protein in the diets of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1603-1610, 1996.

POND, K.R. et al. Estimating intake using rare earth markers and controlled release devices. In: Southern pasture and forage crop improvement conference, 45, 1989, Little Rocks. **Proceedings...** Little Rocks, 1990. p. 73-81

REBHUN, W.C.; GUARD, C. **Doenças do gado leiteiro.** São Paulo: Rocca, 2000. 642p.

REEVES, M.; FULKERSON, W.J.; KELLWAY, R.C. Production responses of dairy cows grazing well-managed kikuyu pastures to energy and protein supplementation. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.36, p.763-770. 1996.

REGO, F.; CECATO, U.; CANTO, M.W. et al. Qualidade do capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia 1) manejados em diferentes alturas, sob pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., Piracicaba, 2001. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2001, p. 117- 118.

REIS, R. B.; D. K. COMBS. Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass-legume pasture. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2888–2898, 2000.

REYNAL, S. M.; BRODERICK, G.A. Effect of dietary level of rumen-degradable protein and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 4045-4064, 2005.

REYNAL, S. M.; IPHARRAGUERRE, I.R.; LINEIRO, M. et al. Omasal flow of soluble proteins, peptides, and free Amino acids in dairy cows fed diets supplemented with

proteins of varying ruminal degradabilities. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.4, p.1887-1903, 2007.

ROMERO, J.V. **Compostos nitrogenados e de carboidratos em pastos de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) cv. Cameron manejados com intervalos de desfolhação fixos e variáveis**. 2008. 99p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

RULQUIN, H.; PISULEWSKI, R.; VÉRITÉ, R. et al. Milk production and composition as a function of postruminal lysine and methionine supply: a nutrient-response approach. **Livest. Production Science**, v. 37,p. 69-90, 1993.

RUSSEL, J.B.; O’CONNOR, J.D.; FOX, D.G. et al. A Net Carbohydrate and Protein System for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.

RUSSEL,J.B.; ONODERA,R.; HINO,T. Ruminal protein fermentation: News perspectives on previous contradictions. . In: TSUDA,T., SASAKI,Y., KAWASHIMA,R. (Ed.) **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. New York, Academic Press, p. 681- 697, 1991.

SABBIA, J.A. **Soybean meal substitution with a microbial protein source in dairy cow diets**. 2011. 76 f. Master of Science - South Dakota State University, Brookings.

SALIBA, E. O. S.; PEREIRA, R. A. N.; FERREIRA, W. M. et al. Lignin from Eucaliptus Grandis as indicator for rabbits in digestibility trials. **Tropicaland Subtropical Agroecosystems**, v.3, n.1-3, p.107-109, 2003.

SANTOS, F.A.P. Conceitos atuais de nutrição protéica. In: PEIXOTO, A.M., MOURA, J.C., FARIA, V.P. (Ed.). **Confinamento de bovinos**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.51- 68.

SANTOS, F.A.P.; PEDROSO, A.M. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 267 – 272.

SANTOS, F.A.P.; SANTOS, J.E.P.; THEURER, C.B.; et al. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3182–3213, 1998.

SARMENTO, D.O.L. **Comportamento ingestivo de bovinos em pastos de capim-marandu submetidos a regimes de lotação contínua**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba. 76p., 2003.

SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.

SBRISSIA, A. F.; DA SILVA, S. C.; NASCIMENTO Jr., Ecofisiologia de plantas Forrageiras e o manejo do pastejo. In: PEDREIRA, C. G. L. S. (Ed.) Simpósio sobre Manejo da pastagem, 24, Piracicaba, 2007. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2007, p. 153-176

SCHOR, A.; GAGLIOSTRO, G.A. Undegradable Protein Supplementation to Early-Lactation Dairy Cows in Grazing Conditions. **Journal of Dairy Science**, v.84, p. 1597-1606. 2001.

SCHWAB, C.G. Amino acid nutrition of the dairy cow: current status. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 58, 1996, Ithaca. **Proceedings...**, Ithaca: Cornell University, p.184-198. 1996.

SCHWAB, C.G.; BOZAK, C.K.; WHITEHOUSE, N.L. et al. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation1,2. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 12, p. 3486-3502. 1992.

SILVA, S.C.; PEDREIRA, C.G.S. Princípios de ecologia aplicados ao manejo de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMA DE PASTAGENS, 3., 1997, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAV, FUNEP, 1997. p. 1-62.

SILVA, S.C. Manejo do pastejo para a obtenção de forragem de qualidade. In: Simpósio Goiano sobre manejo e nutrição de bovinos de corte e leite, 7, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: CBNA, 2005. p.117-146.

SILVA, S. C.; NASCIMENTO Jr. Ecofisiologia de plantas Forrageiras. In: PEREIRA, O. G., NASCIMENTO Jr., D. FONSECA, D. M. (Eds.) Simpósio sobre Manejo Estratégico da pastagem, 3, Viçosa, 2006. **Anais...** Viçosa: UFV, 2006, p. 1-42.

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 Animal Science**, v.70, n.12, p. 3562-3577, 1992

STOKES, S. R.; HOOVER, W. H.; MILLER, T. K.; et al. Ruminant digestion and microbial utilization of diets varying in type of carbohydrate and protein. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p.871-881, 1991.

STONE, J.B.; TRIMBERGER, G.W.; HENDERSON.; C.R. et al. Forage intake and efficiency of feed utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.43, p. 1275-1281, 1960.

SUTTON, J.D. Altering milk composition by feeding. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.10, p.2801-2814.1989.

TYRRELL, H.F.; REID, J.T. Prediction of energy value of cow's milk. **Journal of Dairy Science**, v.48, p.1215-1223, 1965.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effects of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.

VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; SANT'ANNA, R. et al. Composição de bactérias ruminais e absorção de aminoácidos microbianos no intestino delgado de novilhos holandeses, nelores e búfalos mestiços. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.5, p.431-440, 1990.

VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta em bovinos. In: PEREIRA, J.C. (Ed.) *Simpósio Internacional sobre Exigências Nutricionais de Ruminantes*. Viçosa, MG, 1995.

VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR – Corte. 1.ed. Viçosa: UFV, DZO, 2006. 142p.

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

VAN SOEST P.; ROBERTSON J. B.; LEWIS B. A. In: Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VEIGA, J.B.; MOTT, G.O.; RODRIGUES, L.R.A. et al. Capim elefante anão sob pastejo. II. Valor Nutritivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, n.8, p. 937-44, ago. 1985.

WALLACE, R. J. Ruminal microbial metabolism of peptides and amino acids. **Journal of Nutrition**, v.126, n.4, p. 1326S–1334S, 1996.

WEBB, K.E.; DIRIENZO, D.B.; MATTHEWS, J.C. Recent developments in gastrointestinal absorption and tissue utilization of peptides: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 1, p. 351-361, 1993.

ZEFERINO, C. V. **Morfogênese e dinâmica do acúmulo de forragem em pastos de capim Marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochst ex A.Rich) Stapf. Cv. Marandu) submetidos a regime de lotação intermitente por bovinos de corte**. 2007. Dissertação

(Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

ZIMMERMAN et al. Effect of Total and Rumen Undegradable Protein on the Performance of Cows Fed Low Fiber Diets. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 1954-1964, 1992.