

Geraldo Filgueiras Neto

**Substituição parcial do farelo de soja por ureia encapsulada para vacas
leiteiras alimentadas com cana de açúcar**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Zootecnia da Escola de
Veterinária da Universidade Federal de Minas
Gerais como requisito para obtenção do título
de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Professor Orientador: Ronaldo Braga Reis

Belo Horizonte

2011

FICHA CATALOGRÁFICA

- F481 Filgueiras Neto, Geraldo, 1984-
Substituição parcial do farelo de soja por ureia encapsulada para vacas leiteiras alimentadas com cana de açúcar / Geraldo Filgueiras Neto. – 2011.
62 p. : il.
- Orientador: Ronaldo Braga Reis
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia
1. Vaca – Alimentação e rações – Teses. 2. Ureia como ração – Teses. 3. Dieta em veterinária – Teses. 4. Leite – Produção – Teses. 5. Leite – Composição – Teses.
I. Reis, Ronaldo Braga. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária.
III. Título.

CDD – 636.214 085 2

DISSERTAÇÃO defendida e aprovada em 01/04/2011, pela comissão
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Ronaldo Braga Reis

Profa. Ana Luiza Costa Cruz Borges

Prof. Marcos Neves Pereira

Aos meus pais, Eros Magno e Rosa Maria, que me criaram tão bem e sempre me incentivaram incondicionalmente a buscar todos os meus sonhos, servindo de exemplo de garra, boa vontade e amor.

Aos meus irmãos, Erinhos e Luis, pela amizade verdadeira e pela confiança em mim, o que me fortaleceu na busca dos meus ideais.

A minha esposa, Roberta pelo apoio incondicional, amor e paciência.

A minha filha Luiza pelos sorrisos rejuvenescedores e por me fazer lutar para ser um exemplo a cada dia.

DEDICO.

À minha avó, Rosa pelo carinho e presença maternal, aos meus avós, Lalá, Pedrito, Odilia (in memorian) pelo exemplo e participação em minha jornada.

Aos meus tios, Washington (in memorian), Mauro e José Homero. Às minhas tias Mara, Nara, Sandra, Sara e Tereza

Aos meus primos, Pedro, Júlia, Nanda, Pedro Mauro, Lelé, Roberto, Paulo e Sofia

Por realmente ser minha família, por estar sempre ali quando eu precisei e por me dar a certeza de poder contar sempre com eles,

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por minha vida, minha família e meus amigos. Pelas oportunidades concedidas e pelas portas abertas.

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Braga Reis, pela confiança compartilhada ao longo desses anos, pelas lições de vida e pela amizade.

Ao Breno Mourão, pela inestimável ajuda em minha co-orientação, pela amizade e por me ensinar tanto, sempre com a paciência de um monge.

Aos amigos João Paulo, Adriano, Helena, Juliana, Marcela e Carol pela amizade, orientação e companhia diária durante o curso para as horas boas e nas ruins também.

Ao Prof. Dr. Livio Ribeiro Molina, pelos conselhos, orientações e pela atenção aos problemas sempre na tentativa de solucioná-los.

Ao Prof. Dr. Helton Matana Saturnino, pelas conversas, amizade e atenção.

Aos demais professores que de várias maneiras contribuíram para esta conquista.

Aos amigos do LabiNutri, em especial à Kelly, Marquinho e Toninho pela deferência, disponibilidade e paciência.

Ao Bolivar pela substituição temporária do nosso orientador, pela referência que se tornou e rigidez nas cobranças, afinal foi importante para nosso crescimento.

Às equipes do Laboratório de Patologia Clínica e Genética Animal pela acolhida e ajuda.

Aos estagiários e bolsistas que nos ajudaram no experimento e análises laboratoriais: Luciana, Érica, Tales, Vítor, Marcela.

À equipe de funcionários da Fazenda Vargem Grande: Marquinho, Juvenil, Tuco, Júlio, Adair, Danda, Bodinho, Vaguinho (in memorian), pela acolhida, ajuda e amizade. Por ser minha família durante todo o período experimental.

À Dona Amélia Braga Reis e filhos pela hospitalidade, paciência e carinho.

À Alltech do Brasil, representadas pelo Marcelo Manella e Rodrigo Maronezzi, pelo financiamento do projeto, confiança e abertura de tantas oportunidades, inclusive internacionais.

MUITO OBRIGADO.

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos.”

Eleanor Roosevelt

“A melhor maneira que o homem dispõe para se aperfeiçoar, é aproximar-se de Deus.”

Pitágoras

“Uma prova de que Deus esteja conosco não é o fato de que não venhamos a cair, mas que nos levantemos depois de cada queda.”

Santa Teresa de Ávila

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE FIGURAS	11
RESUMO	12
ABSTRACT	13
1.INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Uso de fontes de nitrogênio não proteico para vacas leiteiras em lactação	15
2.2 Consumo e produção de leite para vacas utilizando fontes de nitrogênio não proteico em substituição à proteína verdadeira.....	16
2.3 Metabolismo do nitrogênio não protéico e o balanço de nitrogênio em vacas leiteiras.....	17
2.4 Utilização de uréia de liberação controlada na alimentação de vacas leiteiras.....	20
2.5 Síntese protéica a partir de fontes de nitrogênio não proteico – Importância da proteína microbiana ruminal.....	23
2.6 Avaliação econômica da utilização do Optigen	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Local e época do experimento.....	25
3.2 Experimento 1 – Desempenho produtivo	25
3.2.1 Animais, instalações e delineamento estatístico.....	25
3.2.2 Dietas experimentais	26
3.2.3 Avaliação do consumo e digestibilidade aparente de nutrientes	27
3.2.4 Produção e Composição do Leite	28
3.2.5 Eficiência alimentar	28
3.2.6 Nitrogênio Ureico no Plasma.....	29
3.2.7 Bioquímica Urinária	29
3.2.8 Análises estatísticas	29
3.3 Experimento 2 – Padrões da fermentação ruminal.....	30
3.3.1 Animais, instalações e delineamento estatístico.....	30
3.3.2 Dietas Experimentais	30
3.3.3 Avaliação dos Parâmetros Ruminais.....	30
3.3.4 Análise Estatística	31
3.4 Avaliação econômica da utilização do Optigen em vacas leiteiras girolando F1	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Experimento 1 – Desempenho Produtivo	33

4.1.1 Características das dietas e consumo dos animais.....	33
4.1.2 Produção e Composição do leite	36
4.1.3 Eficiência da utilização do nitrogenio	39
4.1.4 Nitrogênio ureico no plasma	40
4.1.5 Produção e bioquímica urinária.....	42
4.2 Experimento 2 – Padrões de Fermentação Ruminal	43
4.3 Avaliação econômica das dietas de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.	49
5. CONCLUSÃO	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

LISTA DE TABELAS

	Páginas
TABELA 1 Efeitos dos teores de proteína bruta (PB) e uréia da dieta de vacas sobre a produção e composição do leite, nitrogênio ureico do leite (NUL) e do plasma (NUP).	20
TABELA 2 Delineamento em ensaio de reversão do tipo <i>switch-back</i> com três períodos, três tratamentos(C, Controle; O, Optigen e U, Ureia) e três repetições (representado apenas a primeira repetição).	25
TABELA 3 Composição das dietas experimentais de vacas girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.	26
TABELA 4 Composição bromatológica da cana de açúcar de três períodos experimentais utilizadas na alimentação de vacas girolando F1 com substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.	27
TABELA 5 Composição bromatológica e preços de insumos utilizados na alimentação de vacas girolando F1.	32
TABELA 6 Composição das dietas experimentais consumidas por vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.	33
TABELA 7 Consumo de matéria seca (CMS), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.	34
TABELA 8 Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo de vacas leiteiras de alimentadas com fontes de nitrogênio não protéico com diferentes degradabilidades ruminais.	36
TABELA 9 Médias diárias de produção e composição do leite de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optgen®II ou uréia.	37

TABELA 10	Eficiência de utilização do nitrogênio da dieta por vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.	39
TABELA 11	Concentrações de nitrogênio ureico no plasma (NUP) de vacas leiteiras de zero a seis horas após a alimentação com fontes de nitrogênio não protéico com diferentes degradabilidades ruminais.	41
TABELA 12	Médias diárias das excreções de derivados de purina de vacas leiteiras alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen e Ureia.	43
TABELA 13	Parâmetros ruminais de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.	44
TABELA 14	Valores de Concentração molar (mM/100 mL) de acetato e propionato no líquido retículo-ruminal de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.	48
TABELA 15	Avaliação econômica das dietas de vacas girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.	49

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1 Nitrogênio ureico no plasma de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou Ureia após a alimentação.	42
FIGURA 2 pH no fluido ruminal de vacas leiteiras girolando F1 fistuladas alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou Ureia. As alimentações ocorreram nos tempos de 0, 6 e 10 horas.	46
FIGURA 3 Concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal de vacas leiteiras girolando F1 fistuladas alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia. As alimentações ocorreram às 0, 6 e 10 horas.	47
FIGURA 4 Optigen Evaluator. Avaliador desenvolvido para verificar impacto da adição de Optigen em dietas de vacas leiteiras.	50

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o consumo de matéria seca, produção, composição do leite, a produção de proteína microbiana e parâmetros ruminais de vacas leiteiras girolando F1 substituiu-se parcialmente o farelo de soja da dieta por ureia ou ureia encapsulada (Optigen®II). Os animais foram divididos aleatoriamente em três tratamentos (Controle, Optigen e Ureia), totalizando 18 animais em ensaio de reversão dupla para o experimento de desempenho e 3 vacas fistuladas em quadrado latino 3x3 para as avaliações de fluido ruminal. As dietas foram formuladas para serem isoproteicas (15,5%) e isoenergéticas. Cerca de 13% do total da proteína bruta foi provenientes do nitrogênio não proteico (NNP) do Optigen®II ou ureia. Não houve diferenças significativas para a produção de leite (28,17 Kg/dia), consumo de matéria seca (22,17 Kg/dia) e produção de sólidos. O contraste Optigen x Ureia foi superior em favor do Optigen para as variáveis de produção e composição do leite. Não houve diferenças para a concentração de nitrogênio ureico no leite (17,54 mg/dl), enquanto o nitrogênio ureico no plasma foi significativamente menor para o Optigen em relação ao controle e ureia. Os tratamentos foram equivalentes na excreção de derivados de purinas, produção urinária, eficiência alimentar e utilização do nitrogênio. A avaliação de fluido ruminal demonstrou elevação do nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis duas horas após as refeições. O experimento permitiu concluir que a substituição parcial do farelo de soja pelo Optigen foi superior à substituição por ureia, não afetou o desempenho animal e reduziu os teores de nitrogênio ureico no plasma.

PALAVRAS CHAVE: Produção de Leite, optigen, girolando

ABSTRACT

Aiming to evaluate the dry matter intake (DMI), production, milk composition, production of microbial protein and rumen parameters of dairy cows F1 girolando partially replaced soybean meal diet for urea or encapsulated urea (Optigen®II). The animals were divided randomly into three treatments (Control, Optigen and Urea), totaling 18 animals tested for the reversal of the performance experiment and three fistulated cows in 3x3 Latin square for the evaluations of rumen fluid. Diets were formulated to be isonitrogenous (15.5%) and isocaloric. About 13% of total protein was derived from non-protein nitrogen (NPN) of Optigen® II or urea. There was no significant difference in milk production (28.17 kg / day), dry matter intake (22.17 kg / day) and solid production. The numerical treatment Optigen was superior in all parameters with the exception of DMI, which was intermediate. The contrast Optigen x Urea were higher in favor of Optigen for variable production and milk composition did not differ for the concentration of urea nitrogen in milk (17.54 mg / dl), while the urea nitrogen in plasma was significantly lower for the Optigen in the control and urea 4 and 6 hours after feeding. The treatments were equivalent in the excretion of purine derivatives, urine production, feed efficiency and nitrogen utilization. The evaluation of rumen fluid showed an increase of ammonia nitrogen and volatile fatty acids two hours after meals. The experiment showed that the partial replacement of soybean meal by Optigen®II were better than the replacement by urea, did not affect animal performance and reduced levels of urea nitrogen in plasma.

PALAVRAS CHAVE: Milk Production, optigen, girolando

1. INTRODUÇÃO

A alimentação dos animais representa a maior fração dos custos da produção e cabe aos pesquisadores encontrarem formulações que viabilizem a utilização de produtos alternativos, em substituição aos alimentos tradicionais como o farelo de soja e o milho, sendo que estes devem possuir menor custo e não comprometer o desempenho dos animais (Valadares Filho et al., 2002). Entretanto, na composição do custo de alimentação, não só os alimentos concentrados, mas também os volumosos utilizados têm participação importante considerando que representam de 40 a 80% da matéria seca (MS) da dieta das várias categorias que compõem o rebanho leiteiro. Além disso, suas características qualitativas irão influenciar de forma decisiva no uso de concentrados, ou seja, dietas em que o volumoso é de boa qualidade, o gasto tende a ser menor do que dietas em que a qualidade do volumoso é baixa para um mesmo nível de produção (Costa, 2004).

A cana-de-açúcar é um volumoso que se destaca na alimentação de bovinos devido à pequena taxa de risco na sua utilização, ao baixo custo por unidade de matéria seca produzida, à manutenção do valor nutritivo, à maior disponibilidade nos períodos de escassez de forragens e ao melhor desempenho econômico quando comparada a outras forrageiras, dependendo da categoria animal (Nussio, 2003). Trabalhos de pesquisa mostram que existem limitações em termos de consumo desta forrageira para bovinos, particularmente os de raças leiteiras com níveis médios e altos de produções de leite devido, principalmente, à baixa digestibilidade da fibra.

Assim, diversos trabalhos de pesquisa desaconselham a utilização de cana-de-açúcar para vacas de alta produção leiteira, como também ignoram sua utilização com suplementação de concentrados para vacas de baixa produção leiteira. De fato, os resultados relatados são insatisfatórios, onde os consumos de matéria seca são afetados negativamente, promovendo o declínio da produção. Entretanto, a fonte protéica para suplementação tem grande influência na obtenção desses resultados, uma vez que o uso de cana-de-açúcar na dieta requer adição de fonte não-nitrogenada para sua correção nutricional, de amido e proteína sobrepassantes no rúmen, que podem ser obtidas no fubá de milho e no farelo de algodão (Cordeiro, 2006).

O uso de fontes de nitrogênio não proteico (NNP) se torna viável, pois explora a capacidade única de ruminantes de sintetizar proteína microbiana de alto valor biológico para suprir a alta demanda por aminoácidos metabolizáveis do animal (NRC, 2001). A ureia se destaca como a principal fonte de NNP na dieta de ruminantes. Entretanto, sua rápida hidrólise pode resultar em perda ruminal de nitrogênio na forma de amônia (Satter e Roffler, 1975). Nos últimos 30 anos, inúmeras tecnologias foram desenvolvidas para sincronizar a liberação de NNP com a degradação de carboidratos no rúmen para maximizar a eficiência microbiana. O encapsulamento da uréia no Optigen®II (Alltech Inc., Nicholasville, USA), segundo Akay et al. (2004), confere um tempo de degradação da uréia em até 16 h, sendo a sua solubilização lenta e constante, melhorando a eficiência de utilização do N ingerido por vacas leiteiras.

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho produtivo e econômico de vacas girolando F1 de alta produção, considerando o balanço de nitrogênio, a produção de proteína microbiana e o ambiente ruminal, em dietas à base de cana de açúcar com substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Uso de fontes de nitrogênio não proteico para vacas leiteiras em lactação

O nitrogênio é reconhecido como um elemento essencial para os animais há muitos anos. O uso do nitrogênio não protéico (NNP), na nutrição dos ruminantes teve sua origem na Alemanha em 1879. A uréia, um NNP, começou a ser fabricada industrialmente em 1870, quando *Bassarow* promoveu sua síntese a partir do gás carbônico e da amônia. Mas foi no período de 1914 a 1918, devido à escassez de alimentos ocasionada pela primeira guerra mundial, que a Alemanha intensificou a utilização da uréia como fonte protéica na alimentação de ruminantes (Maynard et al., 1984).

O NNP não é uma proteína, ou seja, não são aminoácidos reunidos por vínculos peptídicos e existem tanto em animais quanto nas plantas. Embora exista uma variedade de composto NNP (compostos de purinas e pirimidinas, uréia, biureto, ácido úrico, glicosídeos nitrogenados, alcalóides, sais de amônio e nitratos), a uréia por causa do custo, disponibilidade e emprego, é uma das mais utilizadas. A uréia possui características específicas: é deficiente em todos os minerais, não possui valor energético próprio; é extremamente solúvel e no rúmen é rapidamente convertida em amônia, no entanto se fornecida em doses elevadas pode ocasionar toxidez (Maynard et al., 1984).

Para Salman et al. (1996), o uso de uréia pelos ruminantes é limitado devido a sua baixa palatabilidade, sua fácil segregação quando misturada à farelos e sua toxicidade em doses elevadas. Porém vários experimentos realizados com níveis acima dos recomendados não demonstraram prejuízo aos animais (Magalhães et al., 2003). Segundo Santos et al. (1998), vacas com produções inferiores a 35 Kg de leite/dia e animais em fase de crescimento, são capazes de utilizar a uréia com grande eficiência quando esta é adicionada na dose correta. Em revisão de literatura, 23 trabalhos em que a uréia substituiu parcial ou totalmente as fontes de proteína verdadeira foram analisados. Em 17 publicações, a produção de leite não foi alterada, foi maior em duas e diminuiu em apenas 4. O teor de proteína no leite aumentou em 5 trabalhos e não foi afetado nos demais. Os autores concluíram que a inclusão de fontes de NNP não prejudicou a produção (Santos et al., 1998).

Da mesma forma em trabalho testando a substituição do farelo de soja por uréia no concentrado, Cabrita et al. (2003) não encontraram diferenças no consumo e produção dos animais quando foram incluídos 0, 0,5 e 1% de uréia do total de matéria seca consumida. Boucher et al. (2007), também considerando o consumo dos animais, avaliaram a adição de 0; 0,3; 0,6 e 0,9% de uréia em dietas a base de silagem de milho. Não houve diferença para produção de leite e consumo de alimentos entre os tratamentos. O mesmo é relatado por Aquino (2005), no qual a substituição do farelo de soja por uréia a 0,75% e 1,5% da dieta não ocasionaram diferenças no consumo, produção e composição do leite.

Santos (2009) substituiu parcialmente o farelo de soja do concentrado por uréia de liberação controlada ou não. O teor de proteína bruta nas dietas foi similar, 15,5% na matéria seca. A inclusão de NNP reduziu o consumo diário de matéria seca em 0,8 kg ($P=0,04$), sem afetar a produção de leite (31,5 kg, $P=0,98$). Resultados similares foram encontrados por Brito e Broderick (2007), que relataram redução do consumo de 2,2 Kg de MS e 7,1Kg de produção de leite quando a uréia foi a principal fonte protéica da dieta, substituindo o farelo de soja.

Em 2006, Stanton e Whittier relacionaram os fatores mais importantes para a utilização de uréia na alimentação animal. A fonte de carboidratos “prontamente” disponíveis ou nutrientes

digestíveis totais, é o fator mais importante para determinar a quantidade de uréia que pode ser utilizada na alimentação do ruminante. A uréia será mais eficientemente utilizada, quanto maior for a energia digestível da ração. A frequência de fornecimento e a quantidade de uréia também influenciam em sua utilização. Os autores relatam que a suplementação de fósforo, enxofre e micro minerais devem ser adequadas pois o nitrogênio não protéico é utilizado pelos microorganismos ruminais, que dependem desses elementos, mesmo em pequenas quantidades, para a estruturação da proteína microbiana. Por fim, os autores elencam a solubilidade da proteína como um dos fatores importantes para a taxa de utilização da uréia, assim quanto mais solúvel for a fonte de proteína natural, maior será a “competição” com a uréia pelo fornecimento de amônia e pior será o aproveitamento da fonte de nitrogênio não protéico.

Kertz (2010), revisou a utilização de ureia na alimentação de vacas leiteiras e comentou que as recomendações de inclusão de ureia na alimentação de vacas leiteiras tem sido excessivas. Para o autor, as recomendações mais razoáveis seriam de aproximadamente 135 g/vaca/dia, ou 1% do total de concentrado e não mais do que 20% do total da proteína da dieta deveria vir de fontes de NNP.

2.2 Consumo e produção de leite para vacas utilizando fontes de nitrogênio não protéico em substituição à proteína verdadeira.

As características físicas e químicas dos ingredientes da dieta e suas interações podem causar grande efeito sobre a ingestão de matéria seca de vacas em lactação. Limitações físicas são causadas pela distensão do retículo-rumen ou outros compartimentos do trato gastrointestinal oferecendo limite de ingestão para vacas de alta produção ou animais com alta inclusão de forragens na dieta. Do mesmo modo que a fermentação ácida causa aumento da osmolaridade do retículo-rumen e os efeitos específicos do propionato causam redução de consumo. Dentre as características mais comumente relacionadas, a taxa de degradação da proteína no retículo-rumen ou o nível de PDR é muito importante (Allen, 2000).

Silva et al., (2001), avaliaram 15 vacas girolando F1 lactantes alimentadas à vontade com rações isoprotéicas, constituídas na base da matéria seca (MS) de 60% de silagem e 40% de concentrado, contendo 0; 0,7; 1,4; e 2,1% de uréia, correspondentes aos teores de 2,08; 4,01; 5,76; e 8,07% de proteína bruta na forma de compostos nitrogenados não protéicos (NNP). A adição de quantidades crescentes de NNP à dieta apresentou efeito linear decrescente sobre os consumos de matéria seca e produção de leite.

Dietas com teores proteicos de 17,2, 17,7, 18,3 e 18,8%, obtidos pela inclusão crescente de 0, 0,17, 0,33 ou 0,5% de ureia na MS, levaram a uma tendência de redução de consumo de matéria seca: 25,4; 25,7; 25,7 e 25,1 ($P=0,17$). A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura apresentou uma tendência quadrática ($P=0,13$) de resposta negativa ao maior teor de ureia na dieta: 39,4; 40,2; 40,0 e 38,4 kg (Reynal e Broderick, 2005).

Brito e Broderick (2007) alimentaram dezesseis vacas leiteiras em quadrado latino 4x4. Quatro fontes protéicas foram avaliadas: 1,9% da MS de ureia, 12,1% de farelo de soja, 14% de farelo de algodão ou 16% de farelo de canola. Todas as dietas continham 16,6% de PB. A fonte predominante de carboidrato não fibroso oriundo do concentrado foi silagem de milho úmido. A inclusão de silagem de milho foi 35% da MS e a de silagem de alfafa 21%, em todos os tratamentos. A substituição de soja por ureia reduziu em 2,2 kg o consumo de matéria seca, em 7,1 kg a produção de leite e em 0,14 a relação entre a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e o consumo de matéria seca.

Santos et al.. (1998) revisaram 23 publicações onde houve substituição de concentrados proteicos por 0,4 a 1,8% de uréia na dieta total. A produção de leite foi 31,7 kg nas dietas com ureia e 33,3 kg naquelas contendo apenas concentrados proteicos. A inclusão de uréia nas dietas reduziu a produção de leite em três experimentos. O consumo não foi afetado em 17 experimentos e foi reduzido pela ureia em cinco experimentos.

Cabrita et al.. (2003) também não encontraram diferenças no consumo de matéria seca e produção de leite para vacas alimentadas com 0, 0,5 e 1% de uréia em substituição ao farelo de soja do concentrado em dietas a base de silagem de milho e feno. A produção diária das vacas foi de 34 Kg de leite. O mesmo é relatado por Boucher et al.. (2007), que avaliaram a adição de 0, 0,3, 0,6 e 0,9% de ureia da MS em dietas a base de silagem de milho. O consumo e a produção de leite não foram afetados pelos tratamentos.

2.3 Metabolismo do nitrogênio não protéico e o balanço de nitrogênio em vacas leiteiras

A proteína digestível da dieta de ruminantes pode ser degradada no rúmen (PDR) ou escapar para o abomaso e intestinos e então sofrer digestão (PNDR). O nitrogênio proveniente da PDR, por sua vez, é utilizado para síntese de proteína microbiana, que só é maximizada quando a relação entre energia e proteína (nitrogênio) é otimizada. Este processo pode envolver a incorporação de aminoácidos livres e pequenos peptídeos liberados pela proteólise ruminal e/ou a utilização do nitrogênio amoniacal proveniente da deaminação de aminoácidos e da hidrólise de outros compostos nitrogenados não protéicos da dieta, dentre os quais a uréia se destaca (Hammond, 1997).

A amônia é a principal fonte de N para a síntese de proteína no rúmen. Quando incorporada aos esqueletos de carbono pelas bactérias ruminais, dá origem a aminoácidos, que são utilizados por estes microorganismos para síntese protéica (Santos et al., 2006). A proteína microbiana se destaca pelo alto valor nutricional, possuindo perfil aminoacídico muito semelhante ao do músculo e do leite, quando comparada a outras fontes de proteína dietética. Sua composição se assemelha muito aos requisitos de aminoácidos dos animais (Huber e Santos, 1996). Segundo o NRC (2001) a proteína microbiana normalmente representa a principal fração da proteína bruta que chega ao intestino delgado de vacas leiteiras.

A conversão de uréia em amônia é rápida no rúmen, ocorrendo através da urease em uma hidrólise enzimática simples. A uréase está associada à fração microbiana do fluido ruminal, principalmente de origem bacteriana. A amônia produzida no rúmen e não incorporada à proteína microbiana é absorvida pela parede, sendo a forma não protonada (NH_3) rapidamente absorvível por difusão simples a taxas linearmente relacionadas ao pH ruminal acima de 7 (Abdoun et al., 2007).

Quando há excesso de nitrogênio em relação à disponibilidade de energia, ocorre aumento das concentrações de amônia intra-ruminal e a porção não utilizada para a síntese protéica, é absorvida e chega ao fígado pela veia porta (Butler, 1998), onde devido a sua toxicidade é incorporada ao glutamato, formando a glutamina (forma de transporte não tóxica). Dentro da mitocôndria a glutamina sofre várias reações até se tornar o carbamil fosfato, a partir da ação da enzima carbamil fosfato sintetase I. Os geradores primários de íons amônio mitocondriais são a glutamato-desidrogenase e a glutaminase. O grupo carbamil é transferido do carbamil fosfato para a ornitina, formando a citrulina, numa reação catalisada pela ornitina-transcarbamilase nas mitocôndrias. Após o transporte da citrulina para o citosol, a argininosuccinato sintetase catalisa a condensação do aspartato com a citrulina para produzir a argininosuccinato. Esta síntese é regida pela clivagem de ATP (adenosina trifosfato) em ADP

(adenosina difosfato) e PPI (pirofosfato inorgânico). A argininosuccinase rompe então o argininossuccinato em fumarato e arginina. Esta última sofre hidrólise pela arginase para formar uréia e ornitina, completando o ciclo (Swenson e Reece, 1996). Esta síntese de uréia acarreta gasto substancial de energia, que desta forma, deixa de ser aproveitada para a produção (Hammond, 1997).

A capacidade do fígado de sintetizar uréia a partir da amônia é superada quando o teor de amônia no rúmen excede 80 mg/dL (Lewis, 1960). Na intoxicação por amônia ocorre transtorno do metabolismo dos tecidos. A concentração de amônia intracelular pode ser 10 a 50% superior à concentração plasmática (Visek, 1984). Segundo Owens e Bergen (1983), a concentração de amônia ruminal é uma forma de avaliar o balanço entre a proteína alimentar e as frações de NNP, a hidrólise da uréia reciclada e a degradação do protoplasma microbiano, já que estas são as fontes de amônia disponíveis. Da mesma forma, permite avaliar a saída de amônia ruminal, seja pela utilização dos microorganismos, absorção ou passagem para o abomaso.

Firkins e Reynolds (2005) determinaram a partir de vacas em lactação e animais em crescimento, que o aparecimento de nitrogênio amoniacal na veia porta se correlaciona positivamente com o consumo de nitrogênio na dieta. Para Poos et al. (1979) o pico de amônia no rúmen de vacas alimentadas com 3,7% de uréia na MS foi de 34mg/dL de N-NH₃ e nos animais tratados com farelo de soja foi de 20 mg/dL. Os picos ocorreram cerca de duas horas após a alimentação nos dois tratamentos. A inclusão da uréia causou redução de 4,6Kg no consumo em relação ao tratamento com farelo de soja.

Segundo Russel et al. (1992), a produção excessiva de amônia e sua conseqüente absorção ruminal aumentam a excreção urinária de compostos nitrogenados. Os teores de nitrogênio uréico no plasma (NUP) e no leite (NUL) também são altamente correlacionados aos níveis de amônia ruminal (Hammond, 1997). Correlações entre NUP e NUL são citadas na ordem de 0,88 a 0,96 (Roseler et al., 1993 e Baker et al., 1995). Porém, Broderick e Clayton (1997) não concordam com a afirmação de que a concentração de amônia ruminal influencia as concentrações de NUL. A correlação entre o NUL e a concentração de amônia ruminal é baixa ($r^2=0,574$) se comparada a outros fatores como o NUP e quantidade de proteína da dieta. Segundo os autores, a concentração de uréia nos fluidos, incluindo o leite resulta não apenas do excesso da degradação protéica no rumem mas também da ineficiência do metabolismo do nitrogênio causada pelo excesso de proteína disponível para os tecidos. A proteína absorvida que não é convertida em proteína do leite é catabolizada para a produção de energia e este nitrogênio remanescente contribui para o pool de uréia, estando relacionado ao NUL e NUP.

Butler et al. (1996), avaliaram a concentração de NUL e NUP a as taxas de concepção em vacas leiteiras e concluíram que níveis acima de 19mg/dL de NUL ou NUP causaram redução das taxas de concepção entre 18 e 21% em dois experimentos ($p < 0,02$). Com objetivos semelhantes, Rajala-Schultz et al. (2001) avaliaram 24 rebanhos entre 1998 e 1999 para determinar a concentração de NUL e sua relação com a taxa de fertilidade dos animais. Os autores concluíram que vacas com NUL abaixo de 12,7mg/dL possuem cerca de 2 vezes mais chance de serem confirmadas prenhes do que os animais com NUL acima de 15,4 mg/dL. De modo que altas concentrações de NUL estão relacionadas maiores riscos de infertilidade.

Objetivando estudar a relação entre o nitrogênio excretado na urina e os teores de NUL, Kauffman e St-Pierre (2001) utilizaram 4 vacas Jersey e 4 Holandesas múltiparas em arranjo fatorial 2x2 com dois níveis de proteína dietética (13 e 17%) e dois teores de FDN (30 e 40%). Os tratamentos com teores protéicos mais altos elevaram as concentrações de NUL e

NUP. Houve linearidade entre a excreção de nitrogênio na urina e as concentrações de NUL do experimento (5 a 14 mg/dL).

As concentrações de NUL são influenciados por diversos fatores: raça (Rodriguez et al., 1997), ordem de parto (Broderick e Clayton, 1997), peso vivo (Kohn et al., 2001), produção de leite (Goden et al., 2001), conteúdo de proteína e gordura, dias em lactação e estação do ano (Hojman et al., 2004). Os fatores nutricionais com maiores efeitos sobre o NUL são as concentrações dietéticas de Proteína Bruta (PB), PDR, PNDR e a relação energia: proteína (Broderick e Clayton, 1997; Goden et al., 2001).

Hojman et al. (2001) estudaram os fatores produtivos e ambientais que influenciam o NUL utilizando vacas holandesas de 42 rebanhos israelenses. Os autores concluíram que o NUL se correlacionou positivamente com a produção de leite e os teores de gordura no leite. Os teores foram mais altos nos meses de verão, de acordo com a ordem de parto e com o decorrer da lactação. Nutricionalmente, houve correlação positiva entre o NUL e os teores de proteína da dieta, PDR e FDN, por outro lado, houve correlação negativa com o teor de energia da dieta e a quantidade de carboidratos não estruturais. Estes autores observaram que a suplementação com NNP aumentou os teores de NUL ($p < 0,003$).

Ishler (2008), estabeleceram um guia para a concentração de NUL. A autora descreve que valores entre 8 e 14 mg/dl podem ser normais ou não dependendo da situação. Por exemplo, o valor de NUL pode ser próximo a 8 mg/dl desde que a proteína da dieta esteja bem balanceada e esta tenha sido formulada para ser baixa, as vacas tenham alta produção e o nível de carboidratos esteja adequado. Segundo o trabalho, valores acima de 14 mg/dl não são recomendados, pois o animal não está utilizando eficientemente o nitrogênio e por isso há excreção excessiva. Podendo ser devido a altas quantidades de proteína na dieta ou mal balanceamento de carboidratos.

O balanço de nitrogênio pode ser considerado como a diferença entre o N consumido e o N excretado nas fezes, urina e o N incorporado no leite, sendo representado pela retenção de N nos tecidos. Pode-se ainda avaliar a eficiência de utilização do N para a produção de leite. Neste caso o valor seria a relação entre o N secretado no leite e o total de N ingerido (Tamminga, 1992).

Vários trabalhos avaliaram o balanço de nitrogênio em relação à quantidade de proteína degradável no rúmen fornecido na dieta. Davidson et al. (2003) acrescentaram 0,37% de uréia na dieta de vacas em início de lactação, permitindo aumento do teor de PB de 16,8 para 17,2% da MS e diminuindo o teor de PNDR. A dieta com uréia elevou a perda urinária de N em 41g (2,9% a mais de perda em relação ao N ingerido). Em pesquisas semelhantes, Cabrita et al. (2003) substituíram parcialmente o farelo de soja por uréia (1% da MS). A eficiência de utilização do N para a produção leiteira foi de 28% para a dieta com uréia contra 30% em relação ao grupo controle; Reynal e Broderick (2005) encontraram decréscimo na excreção de N urinário quando o teor de uréia da dieta foi reduzido de 0,5 para 0,17% da MS, porém a eficiência de utilização do N não diferiu entre as dietas.

Haig et al., (2002), estudaram os efeitos da solubilidade da proteína sobre a quantidade, a forma e a rota de excreção de nitrogênio em vacas holandesas em lactação. Dezoito vacas foram distribuídas em três tratamentos, recebendo dietas isoproteicas (17,7%), mas com diferentes conteúdos de proteína solúvel. Os tratamentos continham cerca de 30, 36 e 48% da proteína total como PDR, respectivamente. Segundo os autores, o conteúdo de PDR aumentou a excreção urinária e fecal de nitrogênio, sendo esta a principal rota de excreção. Não foram detectados efeitos dos teores de PDR sobre o NUL e NUP. Concluiu-se que a elevação dos teores de PDR da dieta altera as rotas de excreção, mas não têm efeito sobre o balanço total de nitrogênio.

Tabela1: Efeitos dos teores de proteína bruta (PB) e uréia da dieta de vacas sobre a produção e composição do leite, nitrogênio ureico do leite (NUL) e do plasma (NUP).

Referências	PB	Ureia	NUL	NUP	Leite	Gordura		Proteína	
	%MS	%MS	mg/dl	mg/dl	Kg/dia	%	Kg/dia	%	Kg/dia
Broderick et al.,(2009) ¹	16,1	0,0	6,77 ^a	8,87 ^c	39,3 ^a	3,05	1,20	3,22	1,27 ^a
	16,1	0,41	7,45 ^b	9,89 ^c	38,6 ^a	3,17	1,19	3,18	1,22 ^b
	16,0	0,84	8,13 ^b	11,39 ^c	38,5 ^a	2,92	1,10	3,18	1,21 ^{bc}
	16,1	1,31	9,09 ^a	12,78 ^a	36,0 ^b	3,05	1,11	3,18	1,17 ^c
Burgos et al., (2007) ²	15,0	0,0	7,9 ^a	8,2 ^a	29,9	4,06	1,27	2,87	0,86
	17,0	0,7	11,9 ^b	12,9 ^b	31,3	4,20	1,37	2,88	0,90
	19,0	1,5	17,2 ^c	18,6 ^c	29,7	4,10	1,26	2,91	0,86
	21,0	2,2	24,5 ^d	25,8 ^d	30,0	4,01	1,24	2,89	0,87
Boucher et al., (2007) ³	14,9	0,0	11,0 ^a	33,9	...	3,11	1,05	2,84 ^a	0,96
	15,7	0,3	11,0 ^a	30,7	...	3,06	0,95	2,76 ^b	0,86
	16,5	0,6	12,5 ^b	34,6	...	3,17	1,01	2,79 ^{ab}	0,96
	17,3	0,9	13,2 ^b	33,0	...	3,14	1,04	2,77 ^b	0,91
Olmos e Broderick (2006) ⁴	13,5	...	7,7 ^d	10,7 ^e	36,3 ^a	3,14 ^b	1,14	3,09	1,10
	15,0	...	8,5 ^d	13,4 ^d	37,2 ^{ab}	3,27 ^{ab}	1,20	3,15	1,15
	16,5	...	11,2 ^c	17,1 ^e	38,3 ^a	3,27 ^{ab}	1,24	3,09	1,18
	17,9	...	13,0 ^b	21,2 ^b	36,6 ^b	3,47 ^a	1,23	3,18	1,13
	19,4	...	15,6 ^a	24,0 ^a	37,0 ^{ab}	3,44 ^a	1,24	3,16	1,15
Broderick (2003) ⁵	15,1	...	9,3 ^e	...	33,0 ^b	3,51	1,15 ^b	2,99 ^b	0,99 ^b
	16,7	...	12,4 ^b	...	34,1 ^a	3,66	1,23 ^a	3,03 ^a	1,02 ^a
	18,4	...	15,9 ^a	...	34,1 ^a	3,60	1,20 ^a	3,02 ^a	1,02 ^a

^{1,3,5} Quadrados mínimos das médias na mesma coluna seguidos de letras diferentes, são diferentes (p<0,05).

^{2,4} Médias na mesma coluna seguidos de letras diferentes, são diferentes (p<0,05).

Adaptado de Inostroza et al. (2009).

2.4 Utilização de uréia de liberação controlada na alimentação de vacas leiteiras.

As tentativas de sincronização da produção ruminal de amônia com a disponibilidade de energia no rúmen estimularam o desenvolvimento de compostos que objetivam a liberação controlada da uréia (Carareto, 2007). Essa sincronização promove aumento na digestão de fibras e diminui a absorção de amônia devido a sua utilização pelas bactérias e alivia a

atividade do ciclo da uréia, que consome energia em suas funções (Harrison e Karnezos, 2005).

Compostos com liberação controlada do NNP vêm sendo desenvolvidos ao longo dos anos. Mathison et al. (1994), desenvolveram a isobutilidina monouréia, Loest et al. (2001), avaliaram o biureto, enquanto que Bartley e Deyoe (1975) realizaram trabalhos com a starea. Na mesma linha de pesquisa Prokop e Klopfenstein (1977), recobriram a uréia com formaldeído e Forero et al. (1980), encapsularam a uréia com óleos vegetais (linhaça e tungue), porém sem vantagem, pois uma parcela do NNP destes compostos transitava pelo rúmen sem ser convertidos em amônia, diminuindo assim a síntese protéica. Estes compostos mesmo com a degradação mais lenta do que a uréia, ainda assim, não apresentavam a sincronia com a degradação das fibras (Henning et al. 1993). Segundo Owens e Zinn (1988), é possível que em alguns casos a formação de amônia a partir destes compostos no rúmen, embora mais lenta que a da uréia, ainda fosse rápida demais para melhorar a utilização do nitrogênio pelas bactérias ruminais.

O Optigen é uma uréia de liberação controlada (ULC), no qual a uréia é protegida fisicamente por ceras vegetais. Este material difere do primeiro lançamento da Alltech (Alltech Inc, Nicholasville, EUA) em 2005, o Optigen®1200, no qual a proteção se dava por meio de um polímero inerte ao trato gastrointestinal. A recomendação do rótulo do produto é de utilizar o Optigen na ordem de 30 a 240g/animal/dia. Em 2005, Siciliano-Jones, observou em testes preliminares a segurança do Optigen. Foram avaliadas mais de 1500 vacas durante 30 dias em diferentes estados norte-americanos, as doses da fonte de nitrogênio não protéico variaram de 180 a 450 gramas por vaca/dia e não foi observado nenhum tipo de intoxicação dos animais suplementados.

Segundo Akay et al. (2004), a degradabilidade ruminal *in situ* do nitrogênio do Optigen®1200 foi similar à do nitrogênio do farelo de soja. Utilizando fermentadores *in vitro*, estes autores demonstraram que o uso de uréia encapsulada permitiu maior síntese de proteína microbiana e utilização mais rápida de nutrientes em relação à dieta controle, aumentando a utilização de FDA, FDN, carboidratos totais e matéria orgânica, nas quantidades de 16,6, 6,8, 4,0 e 8,0%, respectivamente. Em trabalho semelhante, porém utilizando o Optigen, Harrison et al. (2007) compararam os efeitos da utilização da fonte de uréia de liberação controlada ou uréia sobre os parâmetros ruminais *in vitro*. Os autores avaliaram 17 experimentos e 59 culturas diferentes, constatando que o grupo tratado com Opigen®II produziu maior concentração de ácidos graxos voláteis ($p=0,07$), relação Acetato:Propionato ($p=0,002$) e concentração de nitrogênio amoniacal ($p<0,0001$). Os autores concluíram que houve maior produção de nitrogênio microbiano para as culturas tratadas com Optigen.

Garcia-Gonzalez et al. (2009) compararam a liberação do nitrogênio da uréia e do Optigen no rúmen de novilhos. Foram utilizados 4 novilhos fistulados, recebendo dietas com 11g de uréia por Kg de peso vivo ou 12g por Kg de peso vivo de Optigen. Não houve diferenças entre o pH ou a concentração de ácidos graxos voláteis e NUP. As concentrações ruminais de amônia foram maiores ($p<0,05$) para os novilhos que receberam dieta com uréia enquanto as concentrações plasmáticas de glicose foram maiores para os animais recebendo o Optigen. Os autores observaram picos de amônia no rúmen e no plasma aproximadamente 2 horas após a alimentação do grupo que recebia uréia como a fonte de NNP. Concluiu-se que o Optigen pode aumentar a eficiência ruminal de utilização do NNP e diminuir as concentrações de amônia circulante.

Galo et al. (2003) avaliaram a substituição do farelo de soja e uréia por uréia de liberação controlada (ULC). Foram formuladas 3 dietas experimentais, sendo um controle (18% de PB sem adição da ULC) e dois tratamentos com adição de 0,77% de ULC na MS com dois níveis

de PB (16 e 18%). Não houve diferenças entre o consumo e os teores de proteína e gordura no leite. Os tratamentos com 18% de PB apresentaram maior produção de leite, enquanto a produção de leite por Kg de proteína consumida foi maior no tratamento com 16% de PB e adição de ULC. A excreção dos derivados de purinas na urina e o balanço de nitrogênio também não diferiram entre os tratamentos.

Avaliando a substituição da proteína do farelo de algodão por NNP em dietas à base de silagem de milho, Carareto et al. (2007) utilizaram 32 vacas distribuídas em quadrados latinos 4x4. Os tratamentos consistiam em 0, 30 e 60% de substituição do farelo de soja pelo Optigen®1200 e 30% de substituição utilizando uréia convencional. Houve queda na produção de leite (20,2 para 19Kg/dia) quando o Optigen®1200 substituiu 60% da proteína do farelo de algodão. Nos tratamentos com 30% de substituição, houve redução do consumo em 1,9Kg de MS para o grupo da uréia em comparação à substituição pelo Optigen®1200.

Souza et al. (2009) avaliaram a substituição parcial do farelo de soja por Optigen e seus efeitos sobre a produção e composição do leite de vacas holandesas de alta produção. As dietas experimentais foram isoenergéticas (1,66 EM_L) e isoproteicas (18,4% de PB), sendo um tratamento sem a adição do Optigen e o outro com suplementação de 0,4%, substituindo o farelo de soja. Não houve diferenças significativas para a produção diária de leite e sólidos, sendo o tratamento com Optigen numericamente superior. A uréia de liberação controlada reduziu o teor de gordura no leite.

Inostroza et al. (2009) também avaliaram a produção e composição do leite em 16 rebanhos comerciais nos Estados Unidos utilizando ou não o Optigen como fonte parcial de proteína na dieta. As dietas foram isoproteicas, sendo que a dieta experimental fornecia 114 g/vaca/dia de Optigen. A produção de leite foi maior ($p < 0,01$) para os rebanhos suplementados com a uréia de liberação controlada, não houve diferenças para a composição do leite. Os teores de NUL foram maiores para as dietas contendo Optigen ($p < 0,01$), porém dentro de uma variação normal.

Santos et al. (2009) avaliaram a substituição parcial de farelo de soja na dieta controle por ureia encapsulada (Optigen) ou por ureia. Dezoito vacas foram alocadas em uma sequência dos três tratamentos, em seis Quadrados Latinos 3x3. O teor de proteína bruta da dieta foi similar, 15,5%. A inclusão de NNP reduziu o consumo diário de matéria seca em 0,8 kg ($P=0,04$), sem afetar a produção de leite (31,5 kg, $P=0,98$). A conversão do alimento ingerido em leite foi menor no Controle ($P < 0,09$), enquanto a produção de leite por unidade de proteína ingerida foi maior com Optigen ($P=0,08$). As fontes de NNP aumentaram o teor de NUP duas horas após a alimentação da manhã ($P=0,06$). Entretanto, a frequência de NUP acima de 22,0 mg/dl foi maior com ureia ($P < 0,01$, qui-quadrado), similarmente ao observado para o teor e secreção diária de NUL ($P < 0,01$). A substituição de farelo de soja por NNP melhorou a conversão alimentar, sem afetar o balanço de nitrogênio.

Cada grama de Optigen substitui aproximadamente 6g de farelo de soja. Se uma vaca consumir 170 gramas do Optigen reduzirá em 1020 gramas a quantidade de farelo de soja, criando um espaço de 850 gramas na dieta, permitindo maior flexibilidade no trabalho do nutricionista. A flexibilização da dieta permite alcançar um ou mais objetivos, dentre os quais se destacam o aumento na produção de leite; melhora na eficiência de produção; aumentar a densidade nutricional da dieta; reduzir o custo da alimentação, mantendo a produção de leite e promover maior saúde ruminal (Harrison e Karnezos, 2005).

2.5 Síntese protéica a partir de fontes de nitrogênio não proteico – Importância da proteína microbiana ruminal

Componentes químicos, físicos e nutricionais influenciam o crescimento microbiano ruminal. Os principais fatores químico e físico são o pH e a taxa de renovação ruminal, sendo estes afetados diretamente pelos fatores nutricionais (nível de ingestão, manejo nutricional, tamanho de partículas, qualidade da forragem, relação volumoso-concentrado) (Hoover e Stokes, 1991).

A síntese microbiana no rúmen fornece a maior parte da proteína que chega ao intestino delgado dos ruminantes, representando de 50 a 80% do total de proteína absorvível (Storm e Orskov, 1983). O total de proteína que flui para o intestino depende da disponibilidade dos nutrientes e da eficiência da utilização destes pelos microorganismos ruminais. Desta forma o balanço de nitrogênio no rúmen pode ser dividido em dois eventos distintos: degradação protéica, a qual fornece N para as bactérias e a síntese de proteína microbiana. Maximizando a captação de nitrogênio degradável no rúmen além de aumentar o fornecimento de aminoácidos no intestino, reduz-se a excreção de nitrogênio (Bach, 2005). Segundo Bryant (1973) e Russell et al. (1983), os microorganismos ruminais que fermentam carboidratos não-estruturais, obtêm dois terços do nitrogênio de aminoácidos e peptídeos, já os microorganismos que degradam fibra, podem utilizar todo o nitrogênio a partir da amônia. Os valores ótimos de amônia ruminal vêm sendo debatidos ao longo dos anos, variando de 2 a 29mg/dl. Em 1981, Huber e Kung propuseram que se o requerimento de amônia não for ultrapassado, pode haver redução da síntese microbiana devido a déficits transitórios de amônia. Porém, em 2000, Allen reportou que a eficiência da síntese microbiana independe da concentração de amônia no fluido ruminal,.

Harrison e Karnezos (2005), citando outros autores, relataram que vários são os fatores que afetam a degradabilidade da proteína dietética incluindo o alimento ingerido; relação volumoso:concentrado; fonte; qualidade e quantidade de proteína bruta; carboidratos na dieta; pH ruminal; efeitos associativos dos alimentos; frequência e processamento dos alimentos; método utilizado na conservação da forragem; suprimento de micronutrientes; aditivos nutricionais e condições ambientais.

A forma mais comum de se determinar a eficiência do crescimento bacteriano é a relação de gramas de nitrogênio microbiano por unidade de matéria orgânica disponível no rúmen (ou carboidratos fermentáveis). Essa expressão de eficiência justifica-se ao considerarmos que o maior limitante para a síntese microbiana é a energia (Bach, 2005). Quando a taxa de degradação da proteína excede a capacidade de fermentação de carboidratos, grande quantidade de compostos nitrogenados pode ser perdida na urina. Por outro lado se a taxa de fermentação dos carboidratos for maior que a disponibilidade protéica, ocorrerá redução da síntese microbiana (Nocek e Russel, 1988).

Assim, a sincronização da degradação ruminal de proteína e energia, promove, além de melhora na degradação protéica, um aumento na produção de proteína microbiana no rúmen melhorando a utilização do nitrogênio, uma vez que ambos nutrientes são requeridos simultaneamente pelas bactérias (Herrera-Saldana e Huber, 1989). Russel e Hespell (1981) também sugeriram que uma das formas de se otimizar a utilização do NNP seria a sincronização de sua degradação com a degradação da matéria orgânica.

A síntese de proteína microbiana pode ser estimada de forma não invasiva pela determinação de derivados de purinas na urina. Este método assume que a o fluxo duodenal de ácidos nucleicos é predominantemente de origem microbiana e após a digestão intestinal dos

nucleotídeos de purinas, as bases nitrogenadas adenina e guanina são catabolisadas e excretadas, proporcionalmente, na urina como derivados de purinas (Perez et al., 1996). Do total dos derivados de purinas, cerca de 98% representam as concentrações de alantoína e ácido úrico (Rennó et al., 2003).

Sabendo-se a relação entre o nitrogênio das purinas e o nitrogênio total na massa microbiana, a produção de nitrogênio microbiano pode ser estimada a partir da quantidade de purina absorvida, que é estimada pela excreção urinária dos derivados de purina (Chen e Gomes, 1992). Para determinação do volume urinário produzido por dia por cada animal pode-se utilizar a dosagem de creatinina na urina, não havendo a necessidade de coletas totais, uma vez que a creatinina é um composto excretado constantemente em função do peso vivo (Mendonça et al., 2004).

2.6 Avaliação econômica da utilização do Optigen

Os custos dos ingredientes e nutrientes utilizados para a produção de leite, nos Estados Unidos, historicamente, compreendem cerca de 50% dos custos de produção (Bethard, 1998. Citado por Inostroza et al., 2009). Porém, segundo Cabrera et al. (2009), a relação entre o preço do leite e do alimento diminuiu, elevando para 60% os custos com manejo alimentar de vacas de leite. Desta forma, os autores sugerem que as decisões devem ser estratégicas e sempre visando a redução dos custos alimentares.

Para Akay et al. (2004), existem várias alternativas para substituir a proteína bruta da dieta, que é um dos componentes mais caros da formulação. Desta forma, a uréia é fonte de proteína bruta degradável no rúmen que pode ser usada para substituir esta mesma fração da proteína de origem vegetal (ex. farelo de soja e algodão), reduzindo os custos de formulação. Conforme comentado anteriormente, a uréia apresenta alguns problemas relacionados ao risco de intoxicação, rapidez de sua hidrólise e má sincronização com os carboidratos fermentáveis. O Optigen apresenta um conceito diferente, com taxa de degradabilidade ruminal mais lenta o que permite uma melhor substituição da PDR das proteínas vegetais (Siciliano-Jones e Downer, 2005).

Inostroza et al. (2009), objetivando avaliar o impacto da inclusão de Optigen na dieta de vacas leiteiras de rebanhos comerciais, desenvolveram um “Avaliador” da inclusão do produto. O sistema leva em conta o alimento a ser substituído pela uréia protegida, relacionando o preço por Kg de produto, por unidade de proteína degradável e não degradável. O espaço criado na formulação pela inclusão do Optugen®II é então suprido com alguma fonte energética (ex. milho, polpa cítrica etc), que também tem seu preço e concentrações nutricionais levados em conta. Por fim, os autores determinam o preço do leite, do Optigen e o aumento ou redução da produção encontrada no experimento.

O estudo desses mesmos autores revelaram que o fornecimento de 114g/vaca/dia de Optigen elevou a produção em 0,5Kg/leite/dia quando comparada ao grupo controle. Houve aumento de 21 centavos de dólar por dia na renda sobre o custo da alimentação. Da mesma forma Varga e Ishler (2009) relataram resultados positivos (US\$ 0,16) para a inclusão de 120 gramas de Optigen em substituição parcial do farelo de soja.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e época do experimento

O experimento foi conduzido nas dependências da Fazenda Vargem Grande, no município de Monsenhor Paulo, MG, no período de 13 de setembro a 13 de dezembro de 2008. A cidade está situada a 21°45' de latitude sul e 45°33'12" de longitude oeste e altitude de 890 metros.

O clima é caracterizado pela umidade e pelos ventos brandos. As estações do ano, atualmente apresentam-se um pouco irregulares. A média anual de temperatura é de 20,8 °C, sendo a máxima de 26,5 °C e a mínima de 14,1°C.

Foram conduzidos dois experimentos: no primeiro, avaliou-se o desempenho e o consumo voluntário dos animais; e no segundo, os padrões ruminais de fermentação.

3.2 Experimento 1 – Desempenho produtivo

3.2.1 Animais, instalações e delineamento estatístico

Foram utilizadas 18 vacas girolando F1, multíparas, com 84±34 dias de lactação, com produção média de 30±3,0 kg/dia de leite, dispostas aleatoriamente em três tratamentos num ensaio de reversão dupla (“Switch back”) com três repetições. Os tratamentos consistiram da substituição do farelo de soja do concentrado por uréia de liberação controlada ou uréia, sendo que a dieta do grupo controle teve o farelo de soja como concentrado protéico sem a adição de fontes de nitrogênio não protéico. Os três períodos experimentais consistiam em 21 dias de adaptação dos animais às dietas mais 7 dias de coletas de material.

As vacas foram confinadas durante os três horários de alimentação, onde permaneciam por cerca de 2 horas e meia. Cada vaca utilizava um canzil com divisórias laterais que impediam o acesso dos animais vizinhos. Após o término das alimentações e no período noturno as vacas eram deslocadas para um piquete de braquiária de 1500 m² no qual não havia nenhuma oferta de forragem. Os animais tiveram acesso ilimitado à água e sal mineral no piquete de descanso, ordenha e corredores. Na Tabela 2, está demonstrada a distribuição dos tratamentos.

Tabela 2: Delineamento em ensaio de reversão do tipo *switch-back* com três períodos, três tratamentos(C, Controle; O, Optigen e U, Ureia) e três repetições (representada apenas pela primeira).

Períodos	Vacas					
	1	2	3	4	5	6
I	C	O	C	U	O	U
II	O	C	U	C	U	O
III	C	O	C	U	O	U

3.2.2 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram balanceadas, segundo o NRC (2001), para serem isoprotéicas (15,5% de PB) com base em um volumoso único (cana de açúcar). No tratamento controle o farelo de soja contribui com 1,89 kg de proteína bruta, já no tratamento com a uréia de liberação controlada, 1,48 kg de proteína foi oriunda do farelo de soja e 0,41 kg proveniente do Optigen . O mesmo foi obedecido para o tratamento 3, onde a uréia foi adicionada próximo da proporção do Optigen e seguindo, praticamente, a mesma quantidade/equivalente de nitrogênio não protéico. As dietas experimentais encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3: Composição das dietas experimentais de vacas girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.

	Controle	Optigen	Uréia
<i>- Ingredientes - Composição, % MS -</i>			
Cana de açúcar	40,04	40,04	40,04
Polpa cítrica	11,83	14,34	14,45
Milho, fubá	15,02	16,27	16,27
Soja, farelo	20,62	16,12	16,07
Algodão, caroço	9,41	9,41	9,41
Optigen®	-	0,74	-
Uréia	-	-	0,69
SoyNúcleo ¹	3,08	3,08	3,08

1 – Suplemento mineral, vitamínico com leveduras e lasalocida: 13,5% Ca; 5,0% P; 2,9% Mg; 4,7% K; 9,3% Na; 4,0% S; 5,3 ppm Co; 300 ppm Cu; 650 ppm Fe; 25,6 ppm I; 1.530 ppm Mn; 12 ppm Se; 2.040 ppm Zn; 165.000 UI Vitamina A; 50.000 UI Vitamina D; 1.000 UI Vitamina E; 28 ppm Biotina; 430 ppm Lasalocida; 2,1 x 10¹¹ UFC Levedura.

As dietas completas foram oferecidas às 6, 12 e 16 horas em quantidade suficiente para resultar em no mínimo 5% de sobra diária. A cada dois dias as quantidades oferecidas eram recalculadas com objetivo de adequar a quantidade de sobras no fim do dia. Foram fornecidos 40% do total da dieta no primeiro trato (06:00hs) e 30% nos dois tratos seguintes.

Na tabela 4 está apresentada a composição bromatológica da cana de açúcar nos três períodos experimentais.

Tabela 4: Composição bromatológica da cana de açúcar de três períodos experimentais utilizadas na alimentação de vacas girolando F1 com substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.

Nutrientes	Período 1	Período 2	Período 3
	<i>- Concentração, % MS -</i>		
Matéria Seca	29,46	22,40	27,16
Proteína Bruta	2,90	2,99	2,62
Fibra em Detergente Neutro	52,43	51,40	56,91
Fibra em Detergente Ácido	30,33	31,52	33,07
Carboidratos não Fibrosos	42,13	41,02	36,06
Extrato Etéreo	0,73	0,78	0,74
Matéria Mineral	1,81	3,81	3,67

3.2.3 Avaliação do consumo e digestibilidade aparente de nutrientes

Entre os dias 22 e 27 de cada período, foram coletadas amostras diárias da dieta completa fornecida aos animais e das sobras alimentares individuais, sendo então formadas amostras compostas com base em quantidades idênticas de matéria natural. Estas amostras foram armazenadas à -10°C até serem enviadas ao laboratório para análises bromatológicas. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada por 72 h a 55°C, moídas em moinho do tipo Thomas-Willey com peneira de 1 mm. Uma subamostra foi então seca em estufa de 105°C por 6 h para determinação do teor de matéria seca (MS). Sequencialmente, determinou-se as cinzas por incineração da amostra em mufla a 600°C por 4 horas. O teor de extrato etéreo foi determinado segundo Official... (1990). O teor de FDN e FDA foram determinados pelo aparelho ANKON® Fiber Analyser (ANKON Technology Corporation, Fairport, EUA). O teor de nitrogênio foi determinado pelo método de Microkjeldhal (AOAC, 1975). Os teores de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e em detergente neutro (NIDN) foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Licitra et al.. (1996). A porcentagem de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculada pela seguinte equação proposta pelo NRC (2001): $100 - ((\% \text{FDN} - \% \text{FDN}_{\text{PB}}) + \% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{Cinzas})$.

O consumo diário de matéria seca (CMS) foi determinado pela pesagem da dieta fornecida e pelas sobras de cada animal. As pesagens foram realizadas diariamente, sendo consideradas as pesagens dos últimos dias (22° ao 27°) para comparar os tratamentos.

Para estimar a produção fecal, a digestibilidade aparente dos nutrientes digeridos totais, foi utilizada a técnica dos indicadores indigestíveis. O indicador externo, o óxido crômico (Cr₂O₃), foi administrado por via oral na quantidade de 16 gramas/dia, duas vezes ao dia (8 gramas de Cr₂O₃ a cada 12 horas de intervalo), entre o 18° e 28° dia experimental. As análises para determinação do Cr foram realizadas mediante coleta individual de fezes, diretamente do reto, por 4 dias consecutivos e a partir do 23° dia experimental. As coletas foram realizadas de 4 em 4 horas, no período diurno, sendo que ao final de quatro dias foram coletadas 13 amostras de fezes de cada animal, correspondendo à cada hora do dia (das 6 às

18 h). As 13 amostras individuais foram agrupadas em amostras compostas, determinando uma amostra por vaca por período.

Após as coletas, o material foi congelado à -10°C e posteriormente foi enviado ao laboratório para análise. As amostras fecais compostas passaram pelos mesmos procedimentos das amostras de alimento. Foram, pré-secas em estufa ventilada, secas em estufa à 105°C, realizando-se a determinação de MS, cinzas, PB, EE, FDN e FDA. Os cálculos da produção fecal (PF) e do coeficiente de digestibilidade (DA) foram realizados segundo as equações propostas por Church (1988).

$$PF \text{ (gMS/dia)} = \frac{\text{indicador fornecido (g/dia)}}{\text{Indicador nas fezes (g/g de MS de fezes)}}$$

$$DA \text{ (\%)} = \frac{[(\text{nutriente ingerido, Kg/dia}) - \text{nutriente excretado, Kg/dia}]}{\text{Nutriente ingerido (Kg/dia)}} \times 100$$

3.2.4 Produção e Composição do Leite

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia (às 05:30 e 16:30 horas). A produção de leite foi obtida através da medição das produções individuais de leite por oito ordenhas consecutivas, entre o 24º e o 28º dia. Para determinação da composição do leite, foram tomadas amostras individuais coletadas em frascos contendo 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol e encaminhadas à Clínica do Leite do Departamento de Zootecnia da USP/Esalq, para a realização das análises de proteína, gordura, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico no leite. A proteína, gordura, lactose e sólidos totais foram analisados através da técnica de infravermelho enquanto que a determinação de N-uréico foi feita por espectrofotometria.

A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (LCG 3,5%) foi obtida pela equação: $LCG \text{ 3,5\%} = (0,42 \times \text{produção de leite, Kg/dia}) + (16,2 \times \text{produção de gordura, Kg/dia})$ (Gravert, 1987). Por outro lado, a correção da produção de leite para o teor de sólidos foi obtida pela fórmula citada por Tyrrel e Reid (1965): $LCST = (12,3 \times \text{produção de gordura, Kg/dia}) + (6,56 \times \text{produção de extrato seco desengordurado, Kg/dia}) - (0,0752 \times \text{produção de leite, Kg/dia})$.

3.2.5 Eficiência alimentar

Para avaliar a eficiência de utilização de nitrogênio dos alimentos, adotaram-se três equações. A Eficiência 1: conversão de nitrogênio da dieta em proteína do leite, a Eficiência 2 para mensurar a conversão de matéria seca dietética em leite, proposta por DePeters e Ferguson (1992).

$$\text{Eficiência 1} = \frac{\text{Nitrogênio no leite (Proteína do leite/6,38), em Kg}}{\text{Nutriente ingerido, em Kg}}$$

$$\text{Eficiência 2} = \frac{\text{Produção de Leite, em Kg}}{\text{Ingestão de MS, em Kg}}$$

3.2.6 Nitrogênio Ureico no Plasma

Foram realizadas amostragens individuais de sangue nos vasos coccígeos em cada uma das 18 vacas, no último dia experimental (28^o dia), utilizando vacutainer com anticoagulante (EDTA), imediatamente antes da primeira alimentação e de duas em duas horas, totalizando quatro coletas (às 6h, 8h, 10h, 12h). O sangue foi centrifugado (5.000 rpm) por 10 minutos, o plasma foi congelado à -10°C. Posteriormente, o material foi encaminhado ao Laboratório de Patologia da UFMG e analisado para determinar a concentração de nitrogênio ureico no plasma. Foram utilizados kits comerciais (Synermed®) e os procedimentos foram realizados em aparelho automatizado (Cobas Mira -Brasil).

3.2.7 Bioquímica Urinária

Coletaram-se duas amostras diárias (manhã e tarde) de urina por três dias consecutivos. As coletas eram realizadas de 2 a 4 horas após o início da alimentação das vacas. Uma alíquota de 5 mL de cada amostra 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 foram descongeladas para elaboração de uma amostra composta por vaca, por período, para quantificação dos derivados de purinas (ácido úrico e alantoína) e creatinina. Um alíquota foi enviada ao laboratório de Patologia da UFMG para determinação da concentração de creatinina e ácido úrico através de kits comerciais (Synermed®). A concentração de alantoína foi determinada pela técnica descrita por Chen e Gomes (1992) e analisadas por colorimetria a 522nm em espectrofotômetro no Laboratório de Nutrição Animal da UFMG.

3.2.8 Análises estatísticas

O experimento seguiu um delineamento em ensaio de reversão dupla com três repetições (bloco). Estes blocos são determinados pelo grupo em que os animais iniciaram o ensaio. Assim, as seqüências Controle-Optigen-Controle e Controle-Ureia-Controle, constituem um bloco, sendo os outros dois definidos por Ureia-Controle-Ureia, Ureia-Optigen-Ureia e Optigen-Controle-Optigen, Optigen-Ureia-Optigen. As análises estatísticas foram realizadas segundo o Proc Mixed do programa estatístico SAS (1997), pelo modelo matemático:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_j + P_k + A_l \varepsilon_{ij}, \text{ em que:}$$

Y_{ijkl} = variável dependente de resposta animal (produção e composição individual de leite, concentração de uréia no sangue, digestibilidade aparente, consumo de MS, síntese qualitativa de proteína microbiana);

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento i (i = Controle, Optigen, Ureia);

B_j = efeito do bloco j ($j = 1, 2, 3$);

P_k = efeito do período k ($k = 1, 2, 3$);

A_l = efeito do animal l ($l = 1, 2, \dots, 18$)

ε_{ij} = erro associado à média.

A comparação entre as médias foi realizada ao nível de 5% de significância. Foram realizados contrastes entre os tratamentos Controle X Ureia e Optigen e Optigen x Ureia.

3.3 Experimento 2 – Padrões da fermentação ruminal

3.3.1 Animais, instalações e delineamento estatístico

Para os estudos do ambiente retículo-ruminal influenciado pela utilização de uréia de liberação controlada ou não e farelo de soja na dieta, foram utilizadas 3 vacas girolando F1, em lactação, canuladas no rúmen, com cânulas de borracha de 100 mm de diâmetro. As vacas produziam média de 11 kg leite/dia, a 280 ± 72 dias em lactação, pesando 568 ± 34 kg e escore médio da condição corporal de 3,50.

Os animais foram distribuídos em delineamento de quadrado latino 3 x 3, com três períodos de 28 dias, sendo 21 dias para adaptação e outros 7 dias para amostragens.

3.3.2 Dietas Experimentais

As três vacas foram alimentadas com o concentrado utilizado no experimento 1. De modo que a relação entre o farelo de soja, o fubá de milho, uréia e/ou Optigen®II e o premix mineral permaneceram inalteradas. Para avaliar e comparar os padrões de fermentação ruminal destes com os animais do experimento 1, elevou-se a quantidade de Ureia e Optigen®II para os grupos Ureia e Optigen. Assim, a quantidade de NNP entre os grupos do Experimento 1 e as vacas fistuladas recebendo as dietas Optigen e Ureia foi semelhante.

Devido ao avanço na curva de lactação e a baixa produção de leite estes animais receberam 3,9 Kg de concentrado para a dieta Controle e 3,6 Kg para as dietas Optigen e Ureia. As dietas foram complementadas com 500g de polpa cítrica por dia para cada animal. Como esta ingestão de concentrado manteria baixos os níveis de NNP no rúmen, para permitir inferências ao experimento 1, acrescentou-se 90g de uréia ou optigen para os animais em cada um destes tratamentos. Desta forma a quantidade de ureia e optigen fornecida diariamente a estas vacas, era igual ao oferecido para as vacas do experimento 1. As alimentações foram realizadas 3 vezes ao dia, seguindo o mesmo procedimento descrito no Experimento 1.

3.3.3 Avaliação dos Parâmetros Ruminiais

Foram realizadas coletas individuais de líquido retículo-ruminal diretamente no saco ventral do rúmen. A coleta do líquido ruminal foi realizada nos seguintes horários, referentes ao primeiro arração na ordenha da manhã: 0 hora (antes do primeiro arração e da

ordenha), 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 horas, totalizando 9 amostras, que foram divididas em três sub-amostras. Lembrando que no horário referente às 6 e 10 horas os animais foram novamente alimentados (correspondendo às 12h e às 16h da tarde).

A primeira sub-amostra foi utilizada para imediata avaliação do pH em potenciômetro digital portátil, pHTek[®], com variação de 0,1, e continuamente ajustado para padrão pH 4,0 e 7,0 a cada nove leituras. Uma segunda sub-amostra foi acidificada com ácido metafosfórico 25% (2 mL para cada 10 mL de líquido ruminal) e congelada (-5 °C). Após descongelamento em temperatura ambiente, a sub-amostra foi centrifugada e analisada em cromatografia gasosa para concentração molar (mM) total e individual dos ácidos graxos voláteis (acetato, propionato, butirato), utilizando aparelho de cromatografia gasosa GC-17A SHIMADZU. A relação molar acetato:propionato (A:P) foi determinada pela razão da concentração molar (mM) no líquido ruminal de acetato pela de propionato. A terceira sub-amostra foi acidificada com H₂SO₄ 50% v/v (1,0 mL para 50 mL de amostra de líquido ruminal) e congelada (-10 °C) após a coleta e posteriormente descongelada para determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL N-NH₃) (Vasquez, 2002).

3.3.4 Análise Estatística

A análise de variância pode ser observada na Tabela 6, já a equação matemática para ajuste das variáveis medidas podem ser observadas a seguir.

$$Y_{ijklmn} = \mu + T_i + P_j + A_k + e_{1ijk} + TT_l + I_{m(i)} + e_{ijklmn}$$

Onde: Y_{ijklmn} = Variáveis dependentes (pH, concentração de N-NH₃ e de AGV total, proporção molar de acetato, propionato e butirato, e relação molar acetato:propionato);

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento i (i = controle, Optigen e uréia);

P_j = efeito do período j do quadrado (j = 1, 2, 3);

A_k = efeito da vaca k (k = 1, 2, 3);

e_{1ijk} = erro experimental associado à média;

TT_l = efeito do tempo l (l = 0, 1, 3, 5..., 9);

$I_{m(i)}$ = efeito da interação m entre o tratamento i e o tempo l;

e_{ijklmn} = erro experimental associado à média.

As comparações entre as médias foram feitas somente ao longo do tempo dentro de cada tratamento.

3.4 Avaliação econômica da utilização do Optigen em vacas leiteiras girolando F1

Foram realizadas duas simulações econômicas. Uma utilizando o *Optigen® Evaluator* (disponível em <http://dairymgt.info/optigen/optigen.htm#>), criado por Inostroza et al. (2009) e outra considerando as dietas totais aqui apresentadas em cada tratamento. O avaliador, então mencionado permite incluir qual a fonte protéica substituída pelo Optigen e um alimento energético para compor o espaço criado na fórmula. Neste caso simulamos os preços do farelo

de soja, do milho, do leite e do Optigen informando o aumento da produção de leite obtida no experimento 1. Os preços do leite e dos insumos foram tomados com base nos dados de preço médio do mês de setembro do Boletim do Leite de 2008 (Cepea/Esalq; disponível /www.cepea.esalq.usp.br/leite/), estando listados nas figuras 2, 3 e 4.

A segunda avaliação foi realizada a partir da tabulação dos dados em planilhas do Microsoft Excel® 2007. Considerando a receita gerada pela produção de leite e os custos com a alimentação. Os preços dos insumos para a simulação do experimento 1 foram tomados pelo Boletim do Leite de 2008 (Cepea/Esalq) e pelo valor de compra da propriedade na mesma época do experimento (tabela 5).

Tabela 5: Composição nutricional e preços de insumos utilizados na alimentação de vacas girolando F1..

Alimento¹	MS, %	PB, %/MS	PDR, %/PB	PNDR, %/PB	FDN, %/MS	PREÇO,² R\$/TON
Cana de Açúcar	28,45	2,74	----	19,40	57,68	70,33
Farelo de Soja	89,27	46,02	65,36	39,89	15,53	715,00
Fubá de Milho	88,01	7,45	41,22	58,78	11,53	388,00
Caroço de Algodão	93,39	22,62	----	----	48,75	450,00
Polpa Citrica	90,665	6,08	97,00	3,00	23,81	230,00
Optigen®II	99,00	256,00	100,00	----	----	3.500,00
Uréia	97,53	282,02	100,00	----	----	1.000,00
SoyNucleo	99,00	----	----	----	----	2.100,00

1- Composição bromatológica adaptada de Valadares et al (2006).

2 – Preços tomados a partir do Boletim do Leite 2008 (Cepea/Esalq), considerando os meses de outubro e novembro. Para a polpa cítrica, caroço de algodão, uréia e Optigen®II os preços foram dos produtos entregues na fazenda.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1 – Desempenho Produtivo

4.1.1 Características das dietas e consumo dos animais

As dietas experimentais visaram atender as exigências do NRC (2001), formulada para serem isoenergéticas (69,5% de NDT na MS) e isoproteicas (15,5% de PB na MS), porém os resultados das dietas consumidas pelos animais mostram alguma variação da previsão experimental (tabela 2). O consumo de matéria seca foi subestimado durante o planejamento do experimento. O valor de 19,98Kg de MS/dia foi menor do que o obtido no decorrer do experimento, conforme a tabela 8. As análises de matéria seca da dieta também demonstraram variação durante o experimento, devido principalmente à cana de açúcar que, por causa do regime de chuvas, oscilou sua composição de matéria seca ao longo dos períodos (tabela 4). A menor concentração de matéria seca da cana no período 2 deve-se a quantidade de chuva na semana de coleta. Apesar desta variação matéria seca, as aferições de Grau Brix da cana de açúcar não demonstraram grandes oscilações, sendo constante ao longo dos períodos experimentais (entre 19 e 21).

Tabela 6: Composição das dietas experimentais consumidas por vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.

Nutrientes ¹	Controle	Optigen	Uréia
<i>- Concentração, % MS -</i>			
Materia Seca	43,9	47,3	46,5
Proteína Bruta	14,3	14,6	14,4
Fibra em Detergente Neutro	40,5	38,9	38,0
Fibra em Detergente Ácido	20,6	20,4	20,2
Extrato Etéreo	5,3	4,9	4,9
Materia Mineral	6,9	6,8	6,8

1 NNP/Nitrogênio Total = Nitrogênio de fontes não protéicas em relação ao nitrogênio total.

As médias referentes ao consumo de matéria seca e digestibilidade dos nutrientes estão apresentadas na tabela 7 e 8.

Não foi observado efeito dos tratamentos sobre o consumo de matéria seca (CMS). Conforme comentado, os animais apresentaram CMS maior do que o previsto pelo NRC (2001), quando foi elaborado o experimento. Os ajustes de consumo foram realizados de 2 em 2 dias com base na porcentagem de sobras nos cochos. Sempre que as sobras foram inferiores a 5% elevou-se a quantidade de alimento oferecida na refeição subsequente, considerando um ajuste proporcional de todos os ingredientes da dieta. Os consumos registrados para o tratamento Controle, Optigen e Uréia foram 22,56; 22,17 e 21,78 Kg de matéria seca por dia, respectivamente, demonstrando que a inclusão de 164g de Optigen ou 139g de uréia em

substituição parcial do farelo de soja não exerceu influência sobre o consumo de alimentos pelos animais ($p=0,6216$).

Tabela 7: Consumo de matéria seca (CMS), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de vacas leiteiras girolanda F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.

Variável	Tratamento			EPM ¹	Tratamento	Contrastes ²	
	Controle	Optigen®	Ureia			CxNNP	OPxUR
CMS Kg/dia	22,56	22,17	21,78	0,61	0,62	0,41	0,63
CPB Kg/dia	3,31	3,11	3,15	0,13	0,59	0,32	0,84
CEE Kg/dia	1,28	1,01	1,07	0,08	0,12	0,05	0,65
FDN Kg/dia	9,06	8,38	8,54	0,36	0,40	0,19	0,76
CNF Kg/dia	7,36	8,21	7,52	0,38	0,35	0,34	0,27

1 – Erro padrão.

2 – Probabilidade para Contrastes: CxNNP – Controle x Fontes de Nitrogênio Não Proteico e OP x UR – Optigen x Ureia.

Considerando-se o consumo médio de 22,17Kg de MS, sendo 40% deste total referente à cana de açúcar com teor de matéria seca médio de 26,34%, pode-se dizer que o consumo foi de 33,67 Kg de matéria natural de cana de açúcar, com 134g médio de uréia, ou aproximadamente 0,4% e 0,48% de ureia e optigen na matéria natural da cana.

Do mesmo modo, Aquino et al. (2007), trabalhando com vacas holandesas de 22 litros de leite, consumindo cana de açúcar como volumoso único e fonte protéica proveniente exclusivamente de fontes naturais (principalmente farelo de soja) ou tratamentos com substituição por nitrogênio não proteico em níveis crescentes, também não obtiveram diferenças no consumo de matéria seca. Galo et al. (2003) em experimento comparando a adição de uréia ou sua combinação com o Optigen®1200, também não encontraram diferenças de consumo de matéria seca. As dietas de dois dos três tratamentos continham em torno de 18% de PB, sendo uma com inclusão de 0,77% da uréia de liberação controlada e a outra com adição apenas de uréia como fonte de nitrogênio não protéico. O terceiro consistia de uma dieta com menor concentração de proteína (16,4%) e inclusão igual de Optigen®1200. Stewart et al. (2008), trabalhando com o Optigen em inclusão de 150 gramas por vaca por dia em substituição ao farelo de soja, relataram equivalência para o consumo de matéria seca.

Assim como para o consumo de matéria seca, não houve diferenças significativas para o consumo de proteína, extrato etéreo FDN, CNF e NDT entre os tratamentos. O contraste 1 foi significativo para a comparação de consumo diário de NDT entre grupo controle x fontes de nitrogênio não protéico (Tabela 7).

O consumo médio apresentado neste estudo (22,17Kg de MS) é bem maior se comparado a outros trabalhos na literatura que utilizaram cana de açúcar como principal volumoso. Costa (2004), relata consumo médio de 19,81 Kg de MS para dietas de vacas leiteiras holandesas

recebendo dietas com 40% de inclusão de cana de açúcar. O estudo aqui apresentado também promove 40% de cana de açúcar para os animais, porém com um consumo mais alto.

Os pontos determinantes para este alto consumo, podem ter sido o tamanho de partículas, uma vez que as facas da picadeira de cana eram amoladas em dias alternados. O material extremamente bem picado, possivelmente melhorou a taxa de passagem e reduziu o tempo de enchimento ruminal, permitindo maior consumo pelos animais. Outro ponto é que a dieta foi fracionada em três horários, que apesar de não serem equidistantes permitiram ingestão intercalada com períodos de ruminação e descanso, o que sem dúvida aumentou a capacidade de ingestão na refeição seguinte. As dietas eram vigorosamente misturadas (manualmente), dificultando a seleção pelos animais, que ficavam isolados nos canzais e tinham tempo disponível para ingerir a quantidade desejada e na velocidade desejada, o que também contribuiu para aumentar o consumo dos alimentos.

No Experimento 2 observou-se que o pH ruminal não variou ao longo do tempo e mesmo 2 horas após a alimentação os animais mantiveram pH próximo de 6, demonstrando saúde ruminal e ambiente propício à ação das bactérias fibrolíticas, que aumentam a degradação da fibra, a taxa de passagem da dieta e permitem esvaziamento ruminal mais rápido.

Não houve diferenças significativas para a digestibilidade aparente da MS, PB, FDN e CNF. Os valores para digestibilidade do extrato etéreo apresentaram significância ($p=0,04$), sendo maior para o tratamento Controle. O Contraste Controle x NNP foi também significativo para os valores de EE e FDN. Conclui-se que a digestibilidade do FDN e EE foi menor para os tratamentos suplementados com fontes de NNP em comparação com a suplementação de farelo de soja. Os resultados estão expressos na tabela 9.

Estes resultados da digestibilidade do FDN não eram esperados uma vez que as bactérias fibrolíticas utilizam a amônia como forma preferencial de captura do nitrogênio para síntese protéica. Estas bactérias requerem amônia, ácidos graxos ramificados, vitaminas e minerais para seu crescimento e sua ótima atividade fibrolítica (Scott e Dehority, 1965). Deste modo a adição de fontes de NNP deveria melhorar a digestibilidade da fibra, o que não foi observado. No experimento 2 observa-se que os teores de nitrogênio amoniacal foram dentro da normalidade, mais um motivo para obtermos digestibilidades semelhantes ou até maiores nos grupos com inclusão de NNP se comparados às dietas com farelo de soja.

No trabalho de Costa (2004), as dietas com 40% de volumoso (cana de açúcar) apresentaram digestibilidade do FDN de 36,68%, menores do que as aqui apresentadas. Por outro lado, o autor comenta que a digestibilidade da matéria seca desta mesma dieta foi de 67,67%, muito semelhantes aos resultados apresentados na tabela 9.

Tabela 8: Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo de vacas leiteiras de alimentadas com fontes de nitrogênio não protéico com diferentes degradabilidades ruminais.

Variável*	Tratamento			EPM ¹	Tratamento	Contrastes ²	
	Controle	Optigen	Ureia			CxNNP	OPxUR
DAMS %	69,57	64,16	63,18	2,68	0,27	0,11	0,82
DAPB %	69,61	63,94	65,12	3,24	0,53	0,27	0,82
DAFDN %	57,14	41,82	40,46	5,17	0,09	0,03	0,87
DAEE %	94,12	86,64	83,47	2,84	0,04	0,02	0,45
DACNF %	82,97	86,35	86,61	2,74	0,66	0,37	0,95

*DAMS: Digestibilidade aparente da matéria seca; DAPB: Digestibilidade aparente da proteína bruta; DAFDN: digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro; DAEE: digestibilidade aparente do extrato etéreo; DACNF: digestibilidade aparente de carboidratos não fibrosos.

1 – Erro padrão da média;

2 – Probabilidade para Contrastes: CxNNP – Controle x Fontes de Nitrogênio Não Proteico e OP x UR – Optigen x Ureia.

4.1.2 Produção e Composição do leite

A produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e para sólidos, porcentagem e produção de gordura e proteína, sólidos do leite e nitrogênio ureico no leite estão apresentados na tabela 9.

A produção diária de leite, leite corrigido para 3,5% de gordura e para o teor de sólidos foi semelhante entre os tratamentos ($p > 0,05$), assim como a produção (Kg/dia) e a porcentagem dos sólidos. Estas variáveis forma numericamente maiores para os grupos recebendo dietas com Optigen, sendo 28,84 Kg/leite, 29,65 Kg/leite corrigido para gordura (LCG) e 27,99 Kg/leite corrigido para sólidos (LCST).

Tabela 9: Médias diárias de produção e composição do leite de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por uréia de liberação controlada.

Variável*	Tratamento			EPM ¹	Tratamento	Contrastes ²	
	Controle	Optigen	Ureia			CxNNP	OPxUR
Leite, kg/dia	28,19	28,84	27,49	0,78	0,41	0,98	0,19
LCG, kg/dia	28,60	29,65	27,92	0,89	0,24	0,80	0,10
LCST, kg/dia	26,58	27,99	25,86	0,83	0,17	0,72	0,07
Gordura, %	3,65	3,82	3,60	0,13	0,46	0,69	0,24
Gordura, kg/dia	1,03	1,09	0,99	0,04	0,27	0,76	0,11
Proteína, %	3,14	3,20	3,14	0,07	0,69	0,66	0,47
Proteína, kg/dia	0,88	0,92	0,87	0,02	0,26	0,73	0,11
Lactose, %	4,64	4,73	4,65	0,05	0,39	0,38	0,29
Lactose, kg/dia	1,31	1,36	1,28	0,04	0,26	0,74	0,11
EST, %	12,77	13,20	12,19	0,32	0,12	0,86	0,04
EST, kg/dia	3,60	3,80	3,36	0,13	0,08	0,91	0,02
ESD, %	8,70	8,84	8,71	0,09	0,46	0,50	0,29
ESD, kg/dia	2,45	2,55	2,40	0,07	0,23	0,77	0,09
NUL, mg/dl	17,48	17,45	17,68	0,77	0,96	0,93	0,84

*CMS: Consumo de matéria seca; LCG: leite Corrigido para 3,5% de gordura [(0,35 x produção de leite) + (16,2 x produção de gordura)]; LCST: leite Corrigido para sólidos totais [(12,3 x produção de gordura) + (6,56 x extrato seco desengordurado) – (0,0752 x produção de leite)]; EST: extrato seco total; ESD: extrato seco

1 – Erro padrão;

2 – Probabilidade para Contrastes: CxNNP – Controle x Fontes de Nitrogênio Não Proteico e OP x UR – Optigen x Ureia.

O contraste entre Optigen e uréia evidencia tendência para as variáveis de produção de leite. A dieta Optigen foi 1,35Kg maior do que a Ureia para produção de leite ($p=0,19$), 1,73 Kg maior para LCG ($p=0,10$) e 2,13 Kg maior para LCST ($p=0,07$). Confirmando estes valores, o contraste entre Optigen e ureia apresenta diferença ($p=0,04$) para o teor de extrato seco total e para a produção de extrato seco total ($p=0,02$). Este último apresenta tendência entre os tratamentos, apresentando-se maior para o grupo Optigen ($p=0,08$) em relação aos outros dois tratamentos. A produção de gordura também foi maior para o grupo Optigen em relação ao grupo uréia (Contraste OP x UR, $p=0,11$).

Inostroza et al. (2009), trabalhando no estado norte americano do Wisconsin com 16 rebanhos de 148 vacas em média, administrou 114g de Optigen por dia para cada animal em substituição parcial do farelo de soja e obteve aumento na produção de leite da ordem de 0,5Kg de leite por dia (35,4 x 35,9 Kg/dia) para o grupo suplementado em relação ao grupo controle ($p<0,01$). Os autores relataram que não houve diferenças significativas para a produção de gordura, proteína e porcentagem de proteína ($p>0,10$). Para a porcentagem de gordura, os autores relatam tendência ($p=0,07$) de diminuição para o grupo tratado com

Optigen. Este resultado difere do presente estudo, uma vez que não houve diferenças significativas e a porcentagem de gordura, conforme expressa na tabela 7, foi maior para o tratamento Optigen em relação ao controle e uréia.

Varga e Ishler (2008), utilizando inclusão de 120g de Optigen em substituição parcial ao farelo de soja, reportaram aumento na produção de leite de 1,15Kg/dia ($p=0,11$) e de acordo com os resultados deste trabalho, a produção de gordura e proteína também foi maior para o grupo que recebia Optigen, mesmo sem apresentar diferenças significativas. Em trabalho conduzido com Optigen®1200, Akay et al. (2004) também obtiveram resultados semelhantes. Para grupo suplementado com a fonte de uréia de liberação controlada, a produção de leite foi significativamente maior (3,7 Kg/dia, $p<0,01$), houve redução do teor gordura e proteína do leite e aumento da produção diária de proteína e gordura ($p<0,01$). Os autores atribuíram o melhor desempenho do grupo ao incremento na produção microbiana ruminal e grandes quantidades de carboidratos fermentáveis no rúmen.

Santos et al. (2006), realizaram experimento semelhante, no qual avaliaram a substituição da proteína do farelo de soja por Optigen ou Ureia em dieta de vacas leiteiras de alta produção recebendo silagem de milho como principal volumoso. As dietas foram balanceadas para 15,5% de proteína bruta, 1,54% e 1,59% supridos pelo Optigen e uréia, respectivamente em cada tratamento. Os autores relataram redução do consumo de matéria seca para os grupos tratados com fontes de nitrogênio não protéico ($p<0,04$), sem afetar a produção (31,5Kg/dia) e a composição do leite.

Os valores de nitrogênio ureico no leite (NUL) não apresentaram diferenças ($p=0,98$), sendo 17,48; 17,45 e 17,68 mg/dl para o grupo Controle, Optigen e Ureia, respectivamente (Tabela 9). Estes valores são considerados altos. Ishler (2008), interpretando observações de campo relatou que variações normais de NUL vão de 8 a 14mg/dl. Para este autor valores acima de 14mg/dl em vacas no meio da lactação, podem indicar excesso de proteína degradável no rúmen.

Outro ponto é que o NUL pode variar conforme a raça, sendo menor para vacas holandesas (Ishler, 2008). Os animais aqui utilizados são girolando F1 de alta produção e não há ainda uma definição na literatura para os valores normais e limitantes para este tipo de animal. Importante ressaltar que trabalhou-se entre 0,4 e 0,5% de inclusão de NNP do total de matéria natural de cana de açúcar, enquanto a recomendação tradicional no Brasil é da ordem de 1,0% de suplementação (Mendonça et al., 2004).

Santos et al. (2009) também não notaram diferença significativas entre o grupo controle e o tratado com Optigen (15,4 x 15,5mg/dl), houve diferença para o tratamento com adição de uréia como fonte de nitrogênio não protéico em relação ao grupo controle (16,6 x 15,4 mg/dl). Os valores apresentados na tabela 8 estão dentro da variação de NUL publicadas na literatura. Em diversos trabalhos com o Optigen em substituição parcial do farelo de soja, há relatos de variação de NUL entre 8,64mg/dl e 24,98 mg/dl (De Souza et al., 2009; Galo et al., 2003; Inostroza et al., 2009; Santos et al., 2007; Santos et al., 2009; Stewart et al., 2008; Varga et al., 2009;).

Segundo Hutjens e Chase (2007), o NUL é a fração da proteína bruta que tem origem do nitrogênio ureico do plasma (NUP), pois quando sobra amônia no rúmen dos animais, estes compostos são absorvidos e convertidos em uréia pelo fígado. A uréia se difunde livremente pelas membranas plasmáticas e quando alcança a glândula mamária, contribui para elevar o teor de NUL. Além, de fatores nutricionais, o NUL é afetado pela raça, ambiente, ordem de parto, dias após o parto, número de ordenhas e momento das coletas de leite. O trabalho sugere que há um valor de NUL “normal” para cada rebanho, mas afirma que uma variação desejável seria entre 8 a 16mg/dl.

4.1.3 Eficiência da utilização do nitrogênio

As dietas não influenciaram a relação entre produção de leite e consumo de matéria seca, nem a relação N do leite e N consumido. Os dados de eficiência e utilização do nitrogênio estão apresentados na tabela 10.

Tabela 10. Eficiência de utilização do nitrogênio da dieta por vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.

Variável*	Tratamento			EPM ¹	Tratamentos	Contrastes	
	Controle	Optigen®	Ureia			CxNNP	OPxUR
N leite/N cons	0,27	0,29	0,27	0,01	0,38	0,43	0,25
Leite/CMS	1,26	1,31	1,27	0,04	0,59	0,53	0,42

* N Leite/N cons: Relação entre o total de N secretado no leite e o consumido. Leite/CMS: Relação entre a produção de leite e a quantidade de matéria seca ingerida por dia.

1 – Erro padrão; 2 – Probabilidade para Contrastes: CxNNP – Controle x Fontes de Nitrogênio Não Proteico e OP x UR – Optigen x Ureia.

Nesta situação foram calculadas duas relações para avaliar a eficiência de utilização de nitrogênio por vacas mestiças em dietas à base de cana de açúcar. A primeira relação refere-se à eficiência alimentar ou capacidade da vaca de transformar o alimento ingerido em leite. Neste trabalho, as vacas produziram em média 1,28 Kg de leite para cada Kg de MS ingerido. Na meta-análise de Huhtanen e Hristov (2009), os valores médios para eficiência alimentar nos EUA e na Europa foram de 1,42 Kg de leite/ Kg de CMS, superior ao deste trabalho. É importante lembrar que o alimento volumoso aqui utilizado foi cana de açúcar e a maioria dos experimentos internacionais utiliza silagem de milho ou outros volumosos de maior qualidade. Santos et al. (2009) encontraram eficiência alimentar de 1,35 na média dos tratamentos com ou sem suplementação de NNP em dietas à base de silagem de milho.

Mendonça et al. (2004) avaliaram dietas à base de silagem de milho ou cana de açúcar em diferentes proporções com o concentrado e diferentes níveis de inclusão de ureia. Os autores encontraram média de 15,03 Kg de CMS e 19,23 Kg de leite e eficiência alimentar de aproximadamente 1,28 para os tratamentos contendo cana de açúcar. Cordeiro et al. (2006), encontraram produções e consumos mais baixos obtendo uma eficiência da ordem de 1,13 Kg de leite para cada Kg de matéria seca consumida para vacas mestiças alimentadas com dietas a base de cana de açúcar corrigida com 1% de ureia e sulfato de amônio na matéria natural (60%) e concentrado de milho, farelo de algodão (40%).

A segunda relação refere-se à capacidade de secretar proteína no leite à partir do nitrogênio consumido. Vários autores calcularam essa relação em seus trabalhos (Broderick, 2003; Santos, 2009; Danés, 2010; Huhtanen e Hristov, 2009).

Huhtanen e Hristov (2009) fizeram uma meta-análise, recentemente, sobre a concentração protéica da dieta e a produção de leite e eficiência de utilização do nitrogênio em trabalhos americanos e europeus. Eles encontraram valores de eficiência (N leite/N consumido) de

24,7% e 27,7% para os dados americanos e europeus, respectivamente. Broderick (2003), nos EUA com vacas holandesas produzindo acima de 40 Kg/dia de leite com teor proteico da dieta de 16,7%, encontrou valor para eficiência de utilização do N de 27,0%. Os resultados apresentados se assemelham aos relatados pela literatura.

Os dados do presente estudo são satisfatórios se comparados à literatura internacional, uma vez que os valores não são muito diferentes daqueles encontrados para dietas com volumosos de maior qualidade. Considerando a utilização de cana de açúcar, os valores de 0,27; 0,29 e 0,27 para os grupos Controle, Optigen e Ureia são excelentes. Numericamente, o grupo Optigen foi mais eficiente na produção de leite utilização do nitrogênio.

No Brasil, trabalhando com vacas mestiças de baixa produção, Cordeiro et al. (2007), relataram eficiência de utilização média do nitrogênio da ordem de 0,21. Já Mendonça et al. (2004), encontraram valores médios de 0,24 para a relação entre o nitrogênio excretado no leite e o consumido em dietas com diferentes inclusões de uréia e proporção de cana da açúcar.

4.1.4 Nitrogênio ureico no plasma

Vários estudos constataam a alta correlação existente entre o teor de nitrogênio ureico no plasma e no leite. Em sua revisão, Magalhães (2003) mostrou que a correlação entre NUP e NUL varia de 0,88 a 0,96. Segundo Hutjens (1996), os valores de NUL equivalem a 85% do total de NUP. Os resultados deste estudo estão de acordo com a literatura citada, uma vez que a relação entre o NUL e NUP se aproxima dos resultados propostos por estes autores.

A concentração de NUP na primeira coleta, imediatamente antes da primeira alimentação, não diferiu entre as dietas e contrastes ($p = 0,19$, Tabela 11). Duas horas após a alimentação, os valores são também, similares ($p=0,13$), porém nota-se que o contraste Optigen x uréia apresenta tendência ($p=0,06$) em ser maior para a uréia em relação ao Optigen, 18,68 x 21,95 mg/dl. Diferente do observado às duas horas para o contraste Controle x NNP. Após 4 horas da primeira alimentação, os teores de NUP do tratamento Optigen são menores ($p=0,05$) e diferem estatisticamente do grupo suplementado com uréia ($P= 0,02$). Seis horas passadas após a primeira coleta, o grupo Optigen apresenta o menor valor de NUP, havendo diferença quando comparado aos outros dois tratamentos ($P=0,03$).

Os tratamentos apresentaram pico de NUP entre 2 e 4 horas após o fornecimento da primeira refeição, confirmando a proposição de Butler (1998) em sua revisão. Segundo o autor o pico de liberação de NUP ocorre de 2 a 4 horas após a alimentação. O grupo suplementado com Optigen demonstrou menores valores de NUP do que o grupo controle e uréia (tabela 11 e figura 1) 4 e 6 horas após a alimentação. Não houve grande variação do NUP para o grupo controle ao longo do tempo, enquanto as dieta com uréia e Optigen apresentaram picos mais bem definidos entre 2 e 4 horas após a alimentação. Os menores valores encontrados para o Optigen sugerem que o produto permite liberação mais lenta da uréia no rúmen, reduzindo a taxa de absorção de amônia e conseqüentemente, reduzindo os valores de NUP (Hammond, 1997).

A proximidade de valores entre as dietas Controle e Ureia não era esperada, uma vez que não havia fontes de NNP na dieta controle e menor absorção de amônia deveria ocorrer, reduzindo os valores de NUP, conforme relatado por Butler et al.. (1996).

O consumo de matéria seca foi 680g maior para o grupo controle quando comparado ao grupo uréia, no entanto esta diferença não foi significativa e não justifica os altos níveis de NUP,

uma vez que as dietas não variaram em proteína bruta. Estes resultados motivam a reflexão sobre os níveis de PDR do farelo de soja. Cerca de 65% do total da proteína bruta do farelo de soja é degradável no rúmen (NRC, 1989). Este valor pode ser ainda maior considerando-se a menor taxa de passagem das dietas com cana de açúcar, o que permite maior tempo de ação da microbiota ruminal e maior degradação do farelo de soja nos pré-estômagos. Nos resultados aqui apresentados, o farelo de soja sem adição de fontes de NNP foi capaz de manter os níveis de nitrogênio ureico no leite e no plasma altos e próximos aos grupos suplementados com Optigen e Ureia.

Ainda assim, estes valores estão dentro da variação relatada na literatura. Estudos mostraram que vacas leiteiras entre 40 e 100 dias após o parto apresentaram valor médio de 13,4mg/dl para o NUP (Rowlands et al., 1977), porém outros valores são relatados para vacas leiteiras com escore corporal e produções distintas, sendo de 7 a 23,5 mg/dl de NUP (Ruegg et al., 1992; Butler et al., 1996; Broderick e Clayton, 1997; Butler, 1998 e Ruas et al., 2000).

Magalhães (2003), trabalhando com vacas mestiças em 10 propriedades na região de Viçosa – MG, relataram grande variação dos teores de NUP (3,93 a 17,01 mg/dl). Os autores afirmaram que os valores de NUL e NUP foram maiores para os animais mais produtivos, sendo a maior produção em torno de 25Kg de leite por dia.

Tabela 11: Concentrações de nitrogênio ureico no plasma (NUP) de vacas leiteiras de zero a seis horas após a alimentação com fontes de nitrogênio não protéico com diferentes degradabilidades ruminais.

Variável	Tratamento			EPM ¹	Tratamento	Contrastes ²	
	Controle	Optigen®	Ureia			CxNNP	OPxUR
0 Hora	18,22	15,41	17,93	1,05	0,19	0,29	0,13
2 Horas	19,20	18,68	21,95	1,09	0,13	0,45	0,07
4 Horas	20,20	17,73	21,42	0,96	0,05	0,62	0,02
6 Horas	19,77	15,36	18,38	0,99	0,03	0,04	0,06

1 – Erro padrão;

2 – Probabilidade para Contrastes: CxNNP – Controle x Fontes de Nitrogênio Não Proteico e OP x UR – Optigen x Ureia.

3 – Efeito Tratamento x Tempo

Os resultados de NUP, apesar de diferentes numericamente, tiveram comportamento semelhante aos observados no trabalho de Santos (2009). O autor encontrou valores também elevados de NUP (16,4 a 20,6 mg/dl), com formação de pico aproximadamente 2 horas após a primeira alimentação para os tratamentos que recebiam Uréia e Optigen em substituição ao farelo de soja. O grupo controle, sem fontes de nitrogênio não protéico, apresentou pico mais tardio após 5 horas da alimentação e manteve ao longo do tempo valores altos e semelhantes aos dos grupos tratados.

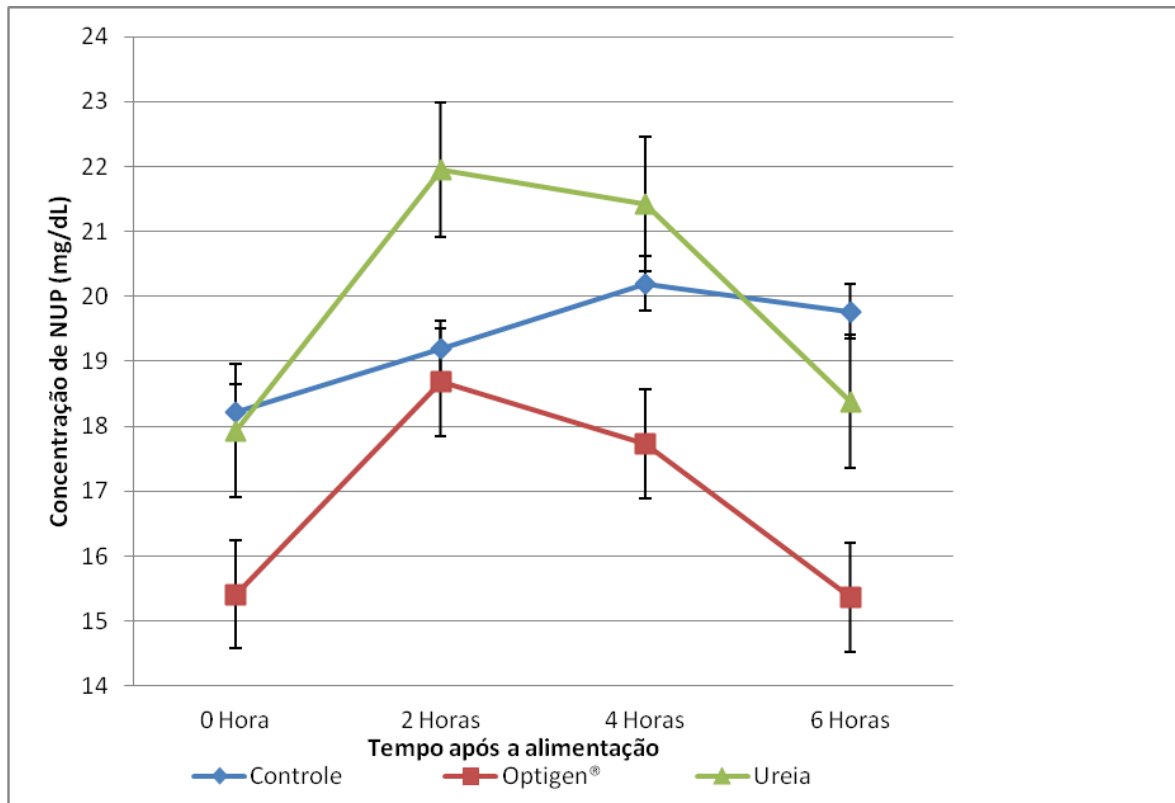


Figura 1: Nitrogênio ureico no plasma de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou Ureia após a alimentação.

O fornecimento de alimentos pela manhã, com os animais em jejum, induziu pico no teor de NUP. O pH do rúmen pode ter sido um fator nesta resposta, uma vez que determina a forma de absorção da amônia pelo epitélio, difusão simples da forma não protonada ou absorção por canais de potássio da forma protonada (Reynolds e Kristensen, 2008). Em pH próximo da neutralidade (tabela 13 e figura 2), esperado em vacas leiteiras imediatamente após o fornecimento matinal de dieta completa (Salvador et al., 2008), predomina a forma não-protonada e lipofílica da amônia, com alta velocidade de absorção (Abdoun et al., 2007), o que resultaria em maior fluxo de amônia para o sangue após a primeira alimentação.

4.1.5 Produção e bioquímica urinária

A concentração de alantoína, ácido úrico na urina e relação alantoína/creatinina, não foram influenciados pelas dietas ($P > 0,05$, tabela 12).

A substituição parcial do farelo de soja por Optigen não causou efeito na concentração urinária de ácido úrico, creatinina e alantoína, nem na relação alantoína/creatinina.

Tabela 12: Médias diárias das excreções de derivados de purina de vacas leiteiras alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen e Ureia.

Variável*	Tratamento			EPM ¹	Tratamentos	Contrastes ²	
	Controle	Optigen®	Ureia			CxNNP	OPxUR
Ác Úrico, mg/dL	36,56	32,49	32,05	5,63	0,86	0,59	0,96
Creatinina, mg/dL	52,08	53,53	50,90	5,54	0,96	0,99	0,78
Alantoína, mg/dL	299,23	310,34	258,13	34,59	0,62	0,48	0,76
Alant/Creat	6,20	5,89	5,53	0,98	0,91	0,72	0,82

1 – Erro padrão;

2 – Probabilidade para Contrastes: CxNNP – Controle x Fontes de Nitrogênio Não Proteico e OP x UR – Optigen x Ureia.

Os resultados apresentados na tabela 12 para alantoína e ácido úrico são maiores do que os encontrados por Silva et al. (2001) e Magalhães et al. (2005), que adicionaram níveis crescentes de NNP (uréia) na dieta de vacas leiteiras e novilhos e observaram valores de 154 a 221 mmol/dia de alantoína; 7,31 a 29 mmol/dia de ácido úrico. Importante ressaltar que os animais utilizados por estes autores são menos produtivos e conseqüentemente tinham ingestão de alimentos menor do que os animais do presente experimento. Em trabalho com vacas holandesas confinadas recebendo silagem de milho, produzindo 20 Kg/dia de leite e submetidas a quatro tratamentos com diferentes concentrações de ureia (de 0 a 2,1% na MS), Oliveira et al. (2001) também encontraram valores de ácido úrico e alantoína muito inferiores aos apresentados.

No entanto, Galo et al. (2003) trabalhando com vacas holandesas confinadas alimentadas com silagem de milho, produzindo 35Kg/dia de leite, recebendo dietas com 16 ou 18% de PB com ou sem ureia protegida em coleta total de urina observaram valores superiores de ácido úrico (87 mmol/dia vs 63 mmol/dia) e valores inferiores de alantoína (280 mmol/dia vs 478 mmol/dia).

Mesmo com ausência de diferenças, a relação entre alantoína e creatinina, são relativamente altas. Neste caso, quanto maior for a relação, devido a maior produção de derivados de purinas em forma de alantoína, mais eficiente em produção de proteína microbiana foi o animal. Cabrita et al. (2003) relatam valores de 3,8 para a relação Alantoína e Creatinina. Já Santos (2009), trabalhando com vacas holandesas e substituição parcial do farelo de soja por ureia de liberação controlada ou não, relataram relação próxima de 1,2 entre Alantoína e Creatinina para vacas que consumiam cerca de 560g de nitrogênio por dia. Valores, diferentes dos relatados neste estudo, talvez porque não tenha coletado a urina totalmente e sim por amostras *spot*, o que aumenta a chance de erros.

4.2 Experimento 2 – Padrões de Fermentação Ruminal

Foram utilizadas três vacas girolando F1 no terço final de lactação fistuladas no rúmen em um único quadrado latino 3x3. Devido ao baixo poder da análise (erro A muito pequeno), não

serão discutidas diferenças entre os tratamentos. Seguem na tabela 13 os resultados, mas apenas dentro de cada tratamento é que se argumentou quanto à diferença, analisando desta forma apenas as sub-parcelas (horários de coleta).

Os valores de pH são apresentados na tabela 13. Nos três tratamentos houve comportamento semelhante da curva de pH (figura 3). Os animais após jejum do período noturno e ordenha da manhã, chegavam ao estábulo com pH próximo da neutralidade, quando recebiam então a primeira refeição. Na aferição duas horas após o início da alimentação, o pH reduziu significativamente para os três tratamentos, apresentou tendência em se manter mais baixo entre as duas refeições seguintes (às 12 e 16 horas) e voltou a subir após a última refeição.

Tabela 13: Parâmetros ruminiais de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.

Variável	Tratamento			EPM ¹	Tratamentos	Hora	Trat x Hora
	Controle	Optigen®	Ureia				
pH	6,50	6,62	6,60	0,0631	0,02	<0,01	0,67
Amônia mg/100ml	6,81	11,98	11,33	1,6703	0,16	<0,01	0,53
AGV ² , mMol/100ml	19,17	15,06	18,68	1,1439	0,17	0,31	0,67
Acetato, mMol/100ml	12,50	9,50	11,77	0,8675	0,18	0,84	0,78
Propionato, mMol/100ml	4,26	4,10	4,98	0,1641	0,01	0,01	0,33
Butirato, mMol/100ml	2,41	1,46	1,94	0,2527	0,12	0,04	0,28
Acetato, %	64,97	63,75	63,14	0,7963	0,32	0,01	0,99
Propionato, %	22,55	26,67	26,57	1,3442	0,15	0,01	0,21
Butirato, %	12,48	9,58	10,29	0,6712	0,02	0,19	0,20

1 – Erro padrão.

2 – AGV: Total de ácidos graxos voláteis.

Os resultados do presente trabalho, demonstram a capacidade das dietas a base de cana de açúcar de manter o pH do fluido ruminal em níveis mais próximos da neutralidade, mesmo com dietas contendo 60% de concentrado em relação ao volumoso. Mesmo com uma quantidade expressiva de concentrado a proporção de acetato, propionato e butirato (tabela 13) não se alterou em favor do propionato, como seria esperado em dietas calóricas e com volumosos de melhor qualidade de fibra.

A literatura nacional e estrangeira apresenta valores bem rígidos de pH, ao estabelecer valores críticos deste parâmetro que influenciariam a degradabilidade ruminal dos constituintes da

parede celular vegetal. Mould *et al.* (1983/1984) mencionaram que o pH crítico para a microbiota celulolítica foi entre 6,0 a 6,1, sendo que abaixo destes valores a degradação da celulose no retículo-rúmen de carneiros foi reduzida.

Para Grant e Mertens (1992), o pH ótimo para a microbiota celulolítica varia entre 6,5 a 6,8. Rennó (2003) observou que a inclusão de nitrogênio não protéico na dieta afetou positivamente o pH ruminal, o que pode ser observado também nos resultados do presente trabalho.

Trabalhando no Brasil com vacas holandesas recebendo dietas à base de silagem de milho ou cana de açúcar com três diferentes níveis de inclusão de uréia, Mendonça *et al.* (2004), observaram valores de pH médio de 7,3 antes da alimentação e 6,7 após 3 horas da primeira refeição. Os autores relataram também, concentrações de nitrogênio amoniacal variando de 4,4 a 16,8 mg/dl antes e após a alimentação. Estes resultados corroboram com os encontrados no atual estudo, uma vez que mostra a tendência que as dietas com cana de açúcar tem em manter o pH do fluido ruminal mais próximo da neutralidade. Quanto ao nitrogênio amoniacal, os autores relataram valores mais altos que os apresentados neste trabalho.

Importante ressaltar que no estudo de Mendonça *et al.* (2004), as vacas produziam 20 litros de leite e estavam em terço inicial de lactação, recebendo portanto, maior quantidade de alimentos concentrados e volumosos. As vacas utilizadas no presente estudo, produziam 11 litros de leite em média e recebiam dieta menos calórica possível, devido a condição corporal já elevada (próximo de 4,0).

Magalhães *et al.* (2006), trabalhando com vacas holandesas e mestiças em torno de 20 Kg de produção diária de leite, relataram valores de 4,66; 20,25; 12,56 e 7,81 mg/dl para nitrogênio amoniacal do fluido ruminal para os tempos 0, 2, 4 e 6 horas após a alimentação de dietas com diferentes níveis de substituição da silagem de milho por cana de açúcar. Para estes autores, o grupo recebendo 100% de cana de açúcar como volumoso, apresentou valor médio de 11,82mg/dl de nitrogênio amoniacal.

O nitrogênio amoniacal apresentado para o grupo Controle não pode ser comparado às demais dietas, pois nos grupos Optigen e Ureia os animais receberam quantidade adicional das fontes de NNP com objetivo de aproximar estas dietas às utilizadas no Experimento 1 em relação a quantidade de PDR.

Conforme mencionado anteriormente, durante os 28 dias de alimentação, as vacas receberam 90g a mais de Optigen ou uréia além dos 3,60Kg e 3,50Kg de concentrado e 0,5Kg de polpa cítrica por dia. O grupo controle recebeu apenas 3,90Kg de concentrado e 0,5Kg de polpa cítrica, assim a menor quantidade de amônia desse grupo é plausível. Somando-se o Optigen e Ureia do concentrado com os 90g adicionais de cada uma das fontes, significa dizer que os animais receberam 154g de Optigen ou 149g de uréia por dia.

Em trabalhos realizados de 2005 a 2008, Harrison *et al.*, observaram valores semelhantes para o pH ruminal *in vitro* de dietas com e sem a inclusão de Optigen (0,55% da MS) em substituição ao farelo de soja.

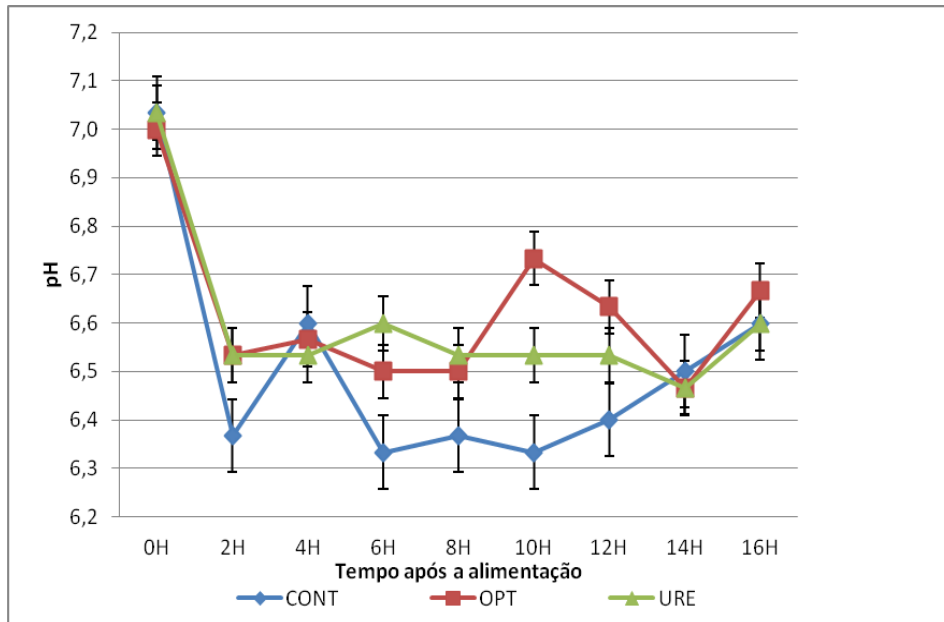


Figura 2: pH no fluido ruminal de vacas leiteiras girolando F1 fistuladas alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou Ureia. As alimentações ocorreram nos tempos de 0, 6 e 10 horas.

Os resultados de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) estão dispostos na figura 3. Observa-se grande variação dos valores ao longo do tempo. Os valores demonstram pico de produção de N-NH₃ duas horas após a primeira alimentação. Nos horários subsequentes para os grupos Controle e Ureia, não ficam bem definidos picos de aumento na produção de amônia ruminal após a segunda e terceira alimentações. No tratamento Optigen a curva mostra claramente mais 2 picos de produção de amônia, ambos 2 horas após as respectivas refeições, o que provavelmente resultou em um fornecimento mais regular de amônia no rumem. Devido à falta de fonte de nitrogênio não protéico e a quantidade de concentrado consumido, o grupo Controle apresentou valores mais baixos ao longo do tempo. Conclui-se que faltou nitrogênio no rúmen das vacas sob a dieta controle, já que valores tão baixos de N-NH₃ não são esperados, mesmo em dietas sem adição de fontes de NNP.

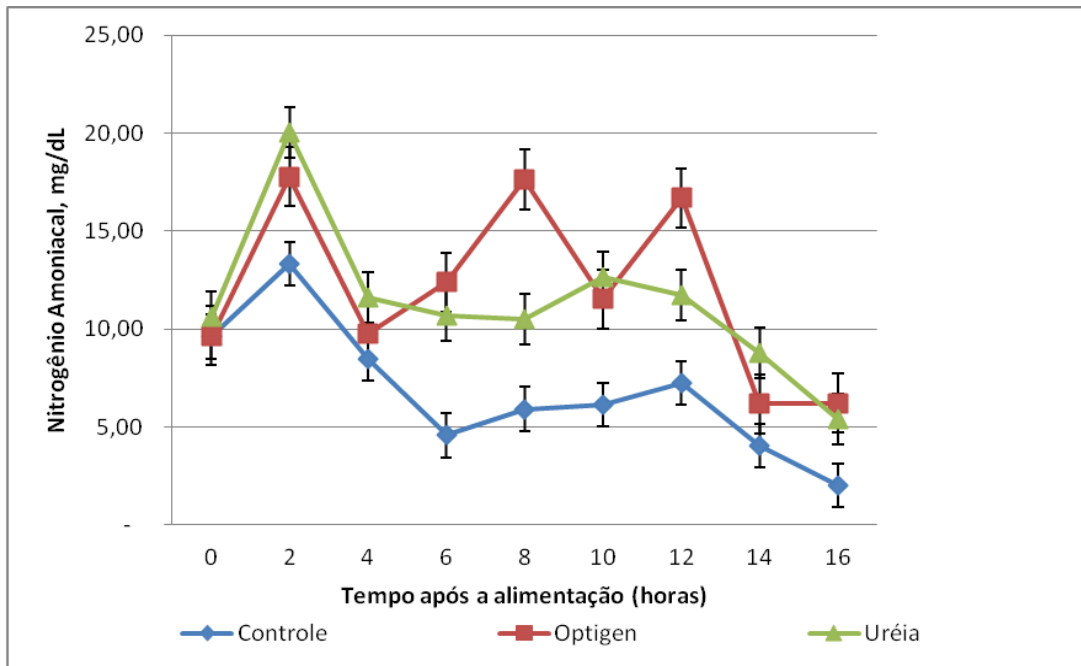


Figura 3: Concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal de vacas leiteiras girolando F1 fistuladas alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia. As alimentações ocorreram às 0, 6 e 10 horas.

As concentrações de acetato e propionato, ácidos graxos totais (AGV) e relação acetato:propionato estão apresentadas na tabela 14.

A concentração total de ácidos graxos variou ao longo do tempo e de acordo com as refeições. De modo geral, para os três tratamentos, a quantidade de AGV aumentou logo após a alimentação, sendo mais bem definida para o grupo Optigen. A relação acetato:propionato segue padrão inverso da concentração de nitrogênio amoniacal. Nas coletas após as refeições a relação A:P tendeu a diminuir, aumentando nos intervalos das refeições.

Comportamento semelhante para os parâmetros ruminiais são relatados nos trabalhos de Aguirre et al. (2006). Estes autores relataram aumento da concentração de acetato, propionato e butirato, conseqüentemente elevando a concentração total de AGV após a incubação das culturas tratadas com Optigen ou farelo de soja. O mesmo padrão é mencionado para o N-NH₃. A relação A:P, como nos resultados apresentados, reduziu após a incubação das amostras, demonstrando aumento na produção de propionato nas coletas realizadas duas horas após as refeições. Os valores de AGV e N-NH₃ relatados pelos autores são menores, porém a relação acetato:propionato mantém um padrão bem semelhante aos do presente estudo.

Tabela 14 : Valores de Concentração molar (mM/100 mL) de acetato e propionato no líquido retículo-ruminal de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.

Tempos	Tratamentos					
	Controle		Optigen®		Ureia	
	Acetato	Propionato	Acetato	Propionato	Acetato	Propionato
0	8,43 ^D	2,07 ^D	11,04 ^{BCD}	3,70 ^{CD}	10,23 ^A	2,99 ^C
2	12,40 ^B	3,64 ^C	10,55 ^D	4,62 ^B	13,61 ^{AB}	6,71 ^A
4	13,09 ^{AB}	3,64 ^C	8,53 ^{CD}	3,93 ^{BCD}	11,85 ^{AB}	4,89 ^B
6	15,09 ^A	5,45 ^A	8,16 ^A	2,91 ^E	12,20 ^A	4,89 ^B
8	14,16A ^B	5,09 ^{AB}	10,66 ^{AB}	5,04 ^{AB}	11,84 ^{AB}	4,80 ^B
10	13,06A ^B	4,31 ^C	7,21 ^A	3,38 ^{DE}	10,28 ^{AB}	4,58 ^B
12	10,18 ^{CD}	4,39 ^{BC}	11,45 ^{ABC}	5,43 ^A	13,45 ^{AB}	6,56 ^A
14	14,06 ^{AB}	5,68 ^A	9,57 ^{BCD}	4,44 ^{CD}	11,03 ^B	4,85 ^B
16	12,06 ^{BC}	4,07 ^C	8,40 ^A	3,40 ^{DE}	11,43 ^B	4,53 ^B
EPM	2,12	0,76	2,12	0,76	2,12	0,76

1 – Erro padrão da média. 2 –Médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de F ao nível de 5% de significância.

Segundo Bachman (1992), a proporção de 40% de volumoso para 60% de alimentos concentrados levaria a relação acetato:propionato para níveis próximos a 2,1 e o pH ruminal para 5,8. Os dados deste autor baseiam-se em animais puros recebendo volumosos de melhor qualidade de fibra que a cana de açúcar. Estes dados vão contra os do presente estudo, já que as dietas com 40% de volumoso (cana de açúcar) mantiveram a relação entre os ácidos graxos voláteis sempre acima de 2,1. Do mesmo modo que o pH ruminal não diminuiu como esperado.

A proporção dos valores de acetato e propionato foram de 64,97% e 22,55% para o grupo Controle; 63,75% e 26,67% para o Optigen e 63,14% e 26,57% (Tabela 13). Estes valores são muito interessantes para dietas com cana de açúcar e se devem a enorme efetividade da fibra da cana de açucare e reduzida taxa de passagem da digesta .

Em série de experimentos in vitro, Harrison et al. (2006), demonstraram que o pico de N-NH₃ ocorreu, aproximadamente duas horas após a incubação das amostras e nos tratamentos com inclusão de 0,55% de Optigen os valores foram maiores que os observados nas culturas sem adição da uréia de liberação controlada.

4.3 Avaliação econômica das dietas de vacas leiteiras girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou uréia.

Os resultados da avaliação econômica do Experimento 1 seguem dispostos na tabela 15. O tratamento com Optigen foi mais rentável, apresentando 4% (R\$0,41) a mais de receita em relação ao Controle e 5% (R\$0,53) em relação ao grupo tratado com uréia por vaca por dia. Nota-se que a despesa com a alimentação do grupo Optigen é maior, porém devido ao aumento na produção observada para este tratamento, a renda sobre os custos de alimentação é, também superior. Os resultados estão de acordo com os relatos de Varga e Ishler (2008) e Inostroza et al. (2009), que também obtiveram maior renda sobre o custo alimentar, devido também ao aumento da produção de leite do grupo recebendo Optigen.

Tabela 15: Avaliação econômica das dietas de vacas girolando F1 alimentadas com cana de açúcar e substituição parcial do farelo de soja por Optigen ou ureia.

Ingredientes ¹	Consumo de Matéria Seca			Custo R\$/ton MN ²	Custo R\$/ton MS	Custo Alimentar		
	Controle	Optigen®	Ureia			Controle	Optigen®	Ureia
CMS	22,56	22,17	21,78					
Cana de açúcar	9,03	9,03	9,03	70,33	247,21	2,23	2,23	2,23
Polpa cítrica	2,67	3,24	3,26	230,00	253,70	0,68	0,82	0,83
Milho, fubá	3,39	3,67	3,67	388,00	440,86	1,49	1,62	1,62
Soja, farelo	4,65	3,64	3,63	715,00	800,94	3,72	2,92	2,91
Algodão, caroço	2,12	2,12	2,12	450,00	481,85	1,02	1,02	1,02
Optigen®	----	0,17	----	3500,00	3535,35		0,60	
Ureia	----	----	0,16	1000,00	1025,33			0,16
Núcleo Mineral	0,69	0,69	0,69	2100,00	2121,21	1,46	1,46	1,46
Custo Total - Alimentação (R\$/vaca/dia)						10,61	10,67	10,23
Receita Total - Produção de Leite (R\$/vaca/dia) ³						20,30	20,76	19,79
Renda sobre custos alimentar (R\$/vaca/dia)						9,68	10,09	9,56
Benefício do Optigen®II em relação aos tratamentos (R\$/vaca/dia)						0,41		0,53

¹ - CMS: Consumo de matéria seca (MS), valores referentes ao consumo em Kg/dia; ² - MN: Matéria natural.

³ - Considerou-se R\$ 0,72 para o preço do leite, segundo dados do Boletim do Leite 2010 (Cepea/Esalq) e as produções de 28,19; 28,84 e 27,49 Kg de leite por dia para os grupos Controle, Optigen e Ureia, respectivamente.

A uréia e produtos a base de nitrogênio não protéico, podem ser relativamente baratos por unidade equivalente de proteína bruta se comparados às fontes de proteína verdadeira (Galo et al., 2003). Dependendo do preço da proteína verdadeira utilizada, o Optigen pode ajudar a

umentar a receita sobre os custos de alimentação, uma vez que este trabalho e outros vários na literatura não demonstraram diferenças significativas para a inclusão da uréia protegida substituindo parcialmente o farelo de soja (Inostroza et al., 2009; Varga e Ishler., 2008; Santos et al., 2009). Por outro lado, o uso de uréia convencional nas mesmas proporções do Optigen deve ser avaliado cautelosamente, pois pode reduzir a produção de leite, conforme dados apresentados e aumentar o balanço de nitrogênio ureico no leite e no plasma, podendo ocasionar problemas reprodutivos (Butler et al., 1998) e aumentar a excreção ambiental de nitrogênio (Tamminga et al., 1992).

A simulação realizada pelo Optigen® Evaluator, criado por Inostroza *et al.*, disponível em <http://dairymgt.info/optigen/optigen.htm#> e expresso na figura 4 demonstrou resultado positivo para a renda sobre os custos de alimentação. Utilizando-se o programa, simulou-se uma substituição parcial do farelo de soja com 164 gramas de Optigen vaca/dia, considerando os mesmo preços então mencionados na tabela 5. Preço de leite de R\$ 0,72 e aumento na produção de 0,650 Kg/leite/dia (valores observados para Optigen x Controle). O resultado foi de R\$ 0,28 de receita a mais por vaca/dia

Este valor difere do encontrado na avaliação do experimento 1 (tabela 15), pois o sistema proposto por Inostroza et al. (2009) não permite adição de mais de uma fonte energética para compor o espaço criado pela adição do Optigen. Assim, considerou-se que todo o espaço seria preenchido por fubá de milho. Porém, na realidade, no Experimento 1 utilizou-se fubá de milho e polpa cítrica para completar as dietas e no momento das avaliações a polpa de citrus estava mais barata do que o fubá de milho.


Optigen® Evaluator

J.F. Inostroza, V.E. Cabrera, R.D. Shaver, J. M. Tricarico

Units
 Metric English

Input Data	As Fed kg/cow/d	Price \$/kg
Optigen®	0.163	3.5
Select a source of protein to be replaced SOYBEANMeal, solvent, 48% CP		0.715
Select a source of energy to add to the diet CORN, YELLOWGrain, ground, dry		0.388
Milk Increase/Decrease because of use of Optigen	0.65	kg/cow/day
Milk Price		0.72

Analysis	Amount kg DM	Value \$/cow/day
Optigen	0.161	-0.57
Protein Feed	-0.868	0.701
Energy Feed	0.707	-0.313
Value of Change in Milk Production		0.468
Value of using Optigen®		0.285



Alltech®
 Nutrition, health, performance ...naturally

Figura 4: Optigen Evaluator. Avaliador desenvolvido para verificar impacto da adição de Optigen em dietas de vacas leiteiras.

5. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a substituição parcial do farelo de soja por Optigen manteve o desempenho produtivo de vacas girolando F1 de alta produção, alimentadas com dietas à base de cana de açúcar nas condições de criação do Estado de Minas Gerais.

A substituição do farelo de soja pelo Optigen não alterou as concentrações de nitrogênio ureico no plasma e no leite e aumentou a produção de sólidos do leite quando comparados aos grupos Controle e Ureia.

Os contrastes revelaram desempenhos semelhantes para o grupo Controle x Optigen e melhor desempenho do grupo Optigen quando comparado ao grupo recebendo ureia em substituição parcial do farelo de soja.

A utilização do Optigen em substituição parcial do farelo de soja gerou resultado econômico positivo em relação aos outros grupos experimentais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOUN, K.; STUMPF, F.; MARTENS, H. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: a review. *Animal Health Research*, v.7, n.1/2, p.1-17, 2007.

AGUIRRE, S. L.; RODRÍGUEZ, J. M. P.; GAMA, R. B. *et al.* Use of a slow release urea and its effects on milk yield and composition of Holstein. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM SCIENCE AND TECNOLOGY IN FEED INDUSTRY, 22., 2006, Lexington, KY. *Proceedings...* Lexington: [s.n.], 2006.

AKAY, V.; TIKOFSKY, J.; HOLTZ, C.; DAWSON, K. Optigen® 1200: controlled release of non-protein nitrogen in the rumen. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, ALLTECH'S TWENTY FIRST ANNUAL SYMPOSIUM, 20., 2004, Nottingham. *Proceedings...* Nottingham: Nottingham University Press, 2004. p.179-185.

AKAY, V.; TIKOFSKY, J.; HOLTZ, C.; DAWSON, K. Optigen® 1200: controlled release of non-protein nitrogen in the rumen. IN: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, ALLTECH'S TWENTY FIRST ANNUAL SYMPOSIUM, 20., 2004, Nottingham. *Proceedings...* Nottingham: Nottingham University Press, 2004. p.179-185, 2004.

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.83, n.7, p.1598-1624, 2000.

AQUINO, A.A.; BOTARO, B. G.; IKEDA, F. S. *et al.* Efeito de níveis crescentes de uréia na dieta de vacas em lactação sobre a produção e a composição físico-química do leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.4, p.881-887, 2007

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, v.88, Suppl.1, p.E9–E21, 2005.

BACHMAN, K. C. Managing milk composition. In: LARGE dairy herd management.. Champaign, IL: American Dairy Science Association, 1992. Chap. 35, p.336-346.

BAKER, L. D.; FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W.. Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.78, n.11, p.2424–2434, 1995.

BARTLEY, E. E.; DEYOE, C. W. Starea as a protein replacer for ruminants: a review of 10 years of research. *Feedstuffs*, v.47, n.30, p.42-44, 1975.

BOUCHER, S. E.; ORDWAY, R. S.; WHITEHOUSE, N. L. *et al.* Effect of incremental urea supplementation of a conventional corn silage-based diet on ruminal ammonia concentration and synthesis of microbial protein. *Journal of Dairy Science*, v.90, n.12, p.5619-5633, 2007.

BOUCHER, S.E.; ORDWAY, R.S.; WHITEHOUSE, N.L. *et al.* Effect of incremental urea supplementation of a conventional corn silage-based diet on ruminal ammonia concentration and synthesis of microbial protein. *Journal of Dairy Science*, v.90, n.12, p.5819-5633, 2007.

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, n.4, p.1816-1827, 2007.

BRODERICK, G. A. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy dows. *Journal of Dairy Science*, v.86, n.4, p.1370-1381, 2003.

BRODERICK, G. A. Reduced crude protein rations for high producing cows: Production and environmental effects. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE, 2007. *Proceedings...* Ithaca: Cornell University, 2007.

BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K.. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, v.80, n.11, p.2964–2971.1997.

BRODERICK, G. A.; STEVENSON, M. J. ; PATTON, R. A. Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.92, n.6, p.2719-2728, 2009.

BRODERICK, G. Nutritional strategies to reduce crude protein in dairy diets. In: Annual Southwest Nutrition & Management Conference, 21., 2006, Tempe, AZ. *Proceedings...* Tucson, Az: University of Arizona, 2006.

BRYANT, M. P. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Federation Proceedings.*, v.32, n.7, p.1809–1813. 1973.

BURGOS, S. A.; FADEL, J. G.; DEPETERS, E. J. Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: relation of milk urea nitrogen to urine urea nitrogen excretion. *Journal of Dairy Science*, v.90, n.12, p.5499-5508. 2007.

BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAM, 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.

BUTLER, W.R. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.81, n.9, p.2533-2539, 1998.

CABRERA, V. E.; SHAVER, R. D.; WATTIAUX, M. A. Optimizing income over feed supplement costs. In: STATE DAIRY NUTRITION & MANAGEMENT CONFERENCE, 4., 2009, Dubuque, Iowa. Disponível em: <<http://www.uwex.edu/ces/dairymgt/documents/iofsc-4state.pdf>>. Acessado em: 01/02/2011.

CABRITA, A. R. J.; FONSECA, A. J. M.; DEWHURST, R. J. *et al.* Nitrogen supplementation of corn silages: 1., effects on feed intake and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.86, n.12, p.4008-4019, 2003.

CARARETO, R. *Uso de uréia de liberação lenta para vacas alimentadas com silagem de milho ou pastagens de capim elefante manejadas com intervalos fixos ou variáveis de desfolhas*. 2007. 117f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba,SP.

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*. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute: 1992. 21p. (Occasional publication).

CHURCH, D. C. *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1988. 564p

CORDEIRO, C. F. A. *Níveis crescentes de proteína bruta na dieta de vacas leiteiras alimentadas com cana-de-açúcar*. 2006. 44f. Dissertação (Mestrado em zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA.

COSTA, G. M. *Cana-de-açúcar e concentrado em diferentes proporções para vacas leiteiras*. 2004. 77f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

DAVIDSON, S.; HOPKINS, B. A.; DIAZ, D. E. *et al.* Effects of amounts and degradability of dietary protein on lactation nitrogen utilization, and excretion in early lactation holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.86, n.5, p.1681-1689, 2003.

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

DEWHURST, R. J.; MITTON, A. M. OFFER, ; N. W.; THOMAS, C. Effects of the composition of grass silages on milk production and nitrogen utilization by dairy cows. *Animal Science*, v.62, n.1, p.25–34, 1996.

FIRKINS, J. L.; REYNOLDS, C. K. *Whole animal nitrogen balance in cattle: nitrogen and phosphorus nutrition of cattle and environment*. Wallingford: CAB International, 2005. 262p.

GALO, E.; EMANUELE, S. M.; SNIFFEN, C. J. *et al.* Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.86, n.6, p.2154-2162, 2003.

GARCIA-GONZALEZ, R.; TRICARICO, J.; HARRISON, G. *et al.* Optigen® II is a sustained release source of non-protein nitrogen in the rumen. *Journal of Animal Science*, v.85, suppl. 1, p.98, 2007.

GODDEN, S. M.; LISSEMORE, K. D.; KELTON, D. F. *et al.* Relationships between milk urea concentrations and nutritional, management, production and economic variables in Ontario dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.84, n.5, p.1128–1139. 2001.

GRANT, R.J ; MERTENS, D.R. Influence of buffer pH and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. *Journal of Dairy Science*. v.75, n.10, p.2762-2768, 1992.

GRAVERT, H.O. Breeding of dairy cattle. In: DAIRY cattle production. New York: Elsevier Science, 1987. p.35-76.

HAIG, P.A.; MUTSVANGWA, T. SPRATT, R.; MCBRIDE, B.W. Effects of dietary protein solubility on nitrogen c losses from lactating dairy cows and comparison with predictions from the Cornell net carbohydrate and protein system. *Journal of Dairy Science*

HAMMOND, A. C. Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1997. Disponivel em: <<http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/1997/frns1997.pdf>>. Acesso em: 01/02/2011.

HARRISON, G. A.; TRICARICO, J. M.; DAWSON, K.. Effects of NPN source on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in rumen-simulating cultures. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A.; HOWER, J. M. (Eds.). *Nutritional biotechnology in the feed and food industries; Alltech's Annual Symposium*, 22. [s.l.]: [s.n.], 2006.

HARRISON, G. A.; TRICARICO, J. M.; MEYER, M. D.; DAWSON, K. A. Effects of Optigen® II on fermentation, digestion and N partitioning in rumen-simulating fermentors fed diets with distillers dried grains. *Journal of Animal Science*, v.85, suppl. 1, p.349, 2007.

HARRISON, G. A.; KARNEZOS, T. P. Can we improve the efficiency of nitrogen utilization in the lactating dairy cow? *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, v.15, p.143-154. 2005.

HENNING, P. H.; STEYN, D. G.; MEISSNER, H. H. Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. *Journal of Animal Science*, v.71, n.9, p.2516-2528, 1993.

HERRERA-SALDANA, R.; HUBER, J. T. Influence of varying protein and starch degradabilities on performance of lactating cows. *of Dairy Science*, v.72, n.6, p.1477- 1483, 1989.

HOJMAN, D.; KROLL, O.; ADIN, G. *et al.* Relationships between milk urea and production, nutrition, and fertility traits in Israeli dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.87, n.4, p.1001–1011. 2004.

HOOVER, W. M.; STOKES, S. R. Balancing Carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *Journal of Dairy Science*, v.74, n.2, p.360-372, 1991.

HUBER, J. T; SANTOS, F. A. P. The role of bypass protein in diets for high producing cows. In: SOUTHWEST NUTRITION. MANAGEMENT. CONFERENCE, 1996, Phoenix. *Proceedings...* Phoenix: University of Arizona, 1996. p.55.

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

HUHTANEN, P.; HRISTOV A.N. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.92, n.7, p.3222–3232, 2009.

HUTJENS, M. F.; BARMORE, J. Milk urea test gives us another tool. *Hoards Dairyman*, v. 140, n.10, p.401, 1995.

HUTJENS, M.; CHASE, L. Interpreting milk urea nitrogen (MUN) values. Ithaca, NY: Cornell University, 2007. Disponível em: <<http://www.puyallup.wsu.edu/dairy/joeharrison/publications.asp>>. Acesso em: 02/02/2011.

INOSTROZA, J. F.; SHAVER, R. D.; CABRERA, V. E.; TRICARICO, J. M. Effect of Optigen on milk yield, composition, and component yields in commercial Wisconsin dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.92, n.1, suppl., p.290-291, 2009.

ISHLER, V. *Interpretation of milk urea nitrogen values*. Pennsylvania: Pennsylvania State University, 2008. P.3.

KAUFFMAN A. J.; ST-PIERRE, N. R. The Relationship of Milk Urea nitrogen to Urine Nitrogen Excretion in Holstein and Jersey Cows. *Journal of Dairy Science*, v.84, n.10, p.2284–2294, 2001.

KERTZ, A. F. Review: Urea Feeding to Dairy Cattle: A Historical Perspective and Review. *Professional Animal Scientist*, v.26, n.3, p.257-272. 2010.

KOHN, R. A., K. F. KALSCHEUR; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, v.85, n.1, p.227–233.2001.

LEWIS, D. Ammonia toxicity in the ruminant. *Journal of the Agricultural*, v.55, n.1, p.111-117, 1960.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; van SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

MAGALHÃES, A. C. M. *Teores de nitrogênio ureico no leite e plasma de vacas mestiças*. 2003. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MATHISON, G. W.; SOOFI-SIAWASH, R.; WORLEY, M. The potential of isobutyraldehyde monourea (propanal, 2-methyl-monourea) as a nonprotein nitrogen source for ruminant animals. *Canadian Journal of Animal Science*, v.74, n.4, p.665-674, 1992.

MAYNARD, L.A.; LOOSLI, B.S.; HINTZ, H.F. *et al. Nutrição animal*. 3.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 726p.

MENDONÇA, S. S.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C. *et al.* Balanço de compostos nitrogenados, produção de proteína microbiana e concentração plasmática de ureia em vacas leiteiras alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.2, p.493-503, 2004.

MOULD, F. L.; ØRSKOV, E. R.; MANN, S. O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. *Animal Feed Science and Technology*, v.10, n.1, p.15-30, 1983/1984.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger, principles of biochemistry*. New York: W.H. Freeman, 2004. 1000p.

NOCEK, J. E., RUSSELL, J. B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.71, n.8, p.2070–2107.1988.

NUSSIO, L. G. Cana: depois de se impor em pequenos confinamentos, ela começa a atrair os grandes - para isso tem de vencer o desafio da ensilagem. *Revista DBO Rural*, n.6, p.104-112, 2003

NUTRIENT requirements of dairy cattle. 7 ed. rev. Washington DC: National Academy Press, 2001. 381p.

OFFICIAL methods of analysis. 12.ed. Washington: AOAC, 1975. v.1, 1094p.

OFFICIAL methods of analysis. 15.ed. Arlington: AOAC, 1990. v.1, 1117p.

OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C. *et al.* Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite em vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não protéicos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.4, p.1358-1366. 2001.

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, n.5, p.1704-1712, 2006.

OWENS, F. N.; BERGEN, W. G. Nitrogen metabolism of ruminant animals: historical perspective, current understanding and future implications. *Journal of Animal Science*, v.57, n.1, p.498-518, 1983.

OWENS, F. N.; ZINN, R. A. Protein metabolism of ruminant animals. In: CHURCH, D. C. (Ed.). *The ruminant animal, digestive physiology and nutrition*. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1988. P.227-249.

PEREZ, J. F.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. *et al.* Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. *British Journal of Nutrition*, v.75, n.5, p.699-709, 1996.

POOS, M. I.; BULL, L. S.; HEMKEN, R. W. Supplementation of diets with positive and negative urea fermentation potential using urea or soybean meal. *Journal of Animal Science*, v.49, n.5, p.1417-1426, 1979.

PROKOP, M. J.; KLOPFENSTEIN, T. J. *Slow ammonia release urea*. Lincoln: Nebraska University, 1977. Nebraska Beef Cattle Report No. EC 77-218.

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

RENNÓ, L. N. *Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois de proteína*. 2003. 252f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

REYNAL, S. M.; BRODERICK, G. A. Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.88, n.11, p.4045-4064, 2005.

REYNOLDS, C. K.; KRISTENSEN, N. B. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *Journal of Animal Science*, v.86, Suppl., p.E293-E305, 2008.

RODRIGUEZ, L. A.; STALLINGS, C. C.; HERBEIN, J. H.; MCGILLIARD, M. L.. Effect of degradability of dietary protein and fat on ruminal, blood, and milk components of Jersey and Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.80, n.2, p.353-363, 1997.

ROSELER, D. K., FERGUSON, J. D.; SNIFFEN, C. J.; HERREMA, J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.76, n.2, p.525-534, 1993.

ROWLANDS, G. J.; LITTLE W.; KITCHENHAN B. A. Relationships between blood composition and fertility in dairy cows- A field study. *Journal of Dairy Research*, v.44, n.1, p.1-7, 1977.

RUEEG, P. L.; GOODGER, W.J .; HOLMBERG, C. A. *et al.* Relation among body condition score, serum urea nitrogen and cholesterol concentrations, and reproductive performance in high-producing Holstein dairy cows in early lactation. *American Journal of Veterinary Research*, v.53, n.1, p.10-14, 1992.

RUSSELL, J. B.; SNIFFEN, C. J.; VAN SOEST, P. J.. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. *Journal of Dairy Science*, v.66, n.4, p.763–775, 1983.

RUSSELL, J. B.; HESPELL, R. B. Microbial Rumen Fermentation. *Journal of Dairy Science*, v.64, n.6, p.1153-1169, 1981.

RUSSELL, J. B.; O’CONNOR, J. D.; FOX, D. G *et al.*. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. *Journal of Animal Science*, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.

SALMAN, A. K.; MATARAZZO, S. V.; EZEQUIEL, J. M. B. *et al.* Estudo do balanço nitrogenado e da digestibilidade da matéria seca e proteína de rações para ovinos, suplementadas com amiréia, uréia ou farelo de algodão. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.26, n.1, p.179-185.1997.

SALVADOR, S. C.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F. *et al.* Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos: I., consumo e digestão. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v.60, n.3, p.682-690, 2008.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2.ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 2002. 265p.

SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Eds). *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. p.255-286.

SANTOS, F. A. P.; HUBER, J. T; THEURER, C. B. *et al.* Milk yield and composition of lactating cows fed steam-flaked sorghum and graded concentrations of ruminally degradable protein. *Journal of Dairy Science*, v. 81, n.1, p. 215-220, 1998.

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

SANTOS, J. F. *Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial do farelo de soja por ureia encapsulada*. 2009. 67f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SATTER, L. D.; ROFFLER, R. E., Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 58, n.8, p.1219-1237, 1975

SCOTT, H. W.; DEHORITY, B. A. Vitamin requirement of several cellulolytic rumen bacteria. *Journal of Bacteriology*, v.89, n.5, p.1169-1175, 1965.

SICILIANO-JONES, J.; DOWNER, J. Utility and safety of a slow-release nitrogen product: Optigen® 1200. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 21., 2005, Alltech. *Proceedings...* Lexington: Alltech, 2005. p.241-248.

SOUZA, V. L.; SILVA, D.; LIMA, R.F. *et al.* Partial replacement of soybean meal by Optigen®: Effects on milk yield and composition in lactating dairy cows. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM SCIENCE AND TECNOLOGY IN FEED INDUSTRY, 25., 2009, Lexington, KY. *Proceedings...* Lexington: [s.n.], 2009.

SOUZA, V. L.; SILVA, D. F. F.; PIEKARSKI, P. R. B. *et al.* Partial replacement of soybean meal by protected urea effects on milk yield and composition. *Journal of Dairy Science*, v.82, n.1, suppl., p.100-101, 2009.

STANTON, T., E.. WHITTIER, J. *Urea and NPN for cattle and sheep*. Colorado: Colorado State University, 2006. Extension Service.

STEWART, R.L., JR.; HARRISON, G. A.; TRICARICO, J. M. *et al.* In situ dry matter, nitrogen, and neutral detergent fiber disappearance from diets containing SBM and Optigen®. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM SCIENCE AND TECNOLOGY IN FEED INDUSTRY, 24., 2008, Lexington, KY. *Proceedings...* Lexington: [s.n.], 2008.

STORM, E.; ØRSKOV, E. R. The nutritive value of rumen microorganisms in ruminant. 1. Large-scale isolation and chemical composition of rumen microorganisms. *British. Journal of Nutrition*, v.50, n.2, p.50:463– 470, 1983.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. *Fisiologia dos animais domésticos*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856p.

TAMMINGA, S. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *Journal of Dairy Science*, v.75, n.2, p.345-357, 1992.

TYRREL, H. F.; REID, J. T. Prediction of the energy value of cow's milk. *Journal of Dairy Science*, v.48, n.9, p.1215-1223, 1965.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. *et al.* Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos. CQBAL 2.0. 2.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 326p.

VALADARES FILHO, S. C.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CAPPELLE, E. R. Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 297p.

VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; SAMPAIO, I. B. *et al.* Níveis de proteína em dietas de bovino. 4. Concentrações de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.6, n.6, p.1270-1278, 1997a.

VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; SAMPAIO, I. B. *et al.* Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de folley. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997b.

VARGA, G. A.; ISHLER, V. Effects of Optigen® on milk production, N balance and diet cost in high producing cows. Pennsylvania: The Pennsylvania State University, 2008.

VISEK, W. J. Nitrogen utilization by the ruminant: some aspects of ammonia toxicity in animal cells. *Journal of Dairy Science*, v.51, n.2, p.286-295. 1968.