

## Recentes Avanços em Nitrogênio não Protéico na Nutrição de Vacas Leiteiras

Geraldo Tadeu dos Santos<sup>1</sup>, Fábio Luiz Bim Cavalieri<sup>2</sup>, Elisa Cristina Modesto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Professor Titular – Doutor, Pesquisador bolsista do CNPq – E-mail: [gtsantos@uem.br](mailto:gtsantos@uem.br), <sup>2</sup>Zootecistas, M.Sc.,  
Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - Universidade Estadual de Maringá  
Maringá - PR

### 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

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 em 1879, na Alemanha, sendo que em 1939 participava do arraçamento de animais nos Estados Unidos (MAYNARD et al., 1984, HUNTINGTON e ARCHIBEQUE, 1999). A uréia, um NNP, começou a ser fabricada industrialmente em 1870, quando BASSAROW promoveu sua síntese à partir do gás carbônico e da amônia. Mas foi no período de 1914 a 1918, devido a escassez de alimentos ocasionado pela primeira guerra mundial, que a Alemanha intensificou a utilização da uréia como fonte protéica na alimentação de ruminantes. O intuito do aumento na utilização de uréia visava uma produção intensiva e de baixo custo de carne e de leite.

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).

Considera-se que a degradabilidade da proteína no rúmen é a conversão da proteína da dieta até amônia, envolvendo então, o processo de digestão (proteína até aminoácidos) e de fermentação (aminoácidos até ácidos graxos voláteis) (BRODERICK et al., 1991 e RUSSELL et al., 1991). Desta forma, a proteína é um dos ingredientes de custo mais elevado na dietas dos animais e a economia da produção está altamente dependente da eficiência de utilização da proteína. A uréia, entretanto, é transformada rapidamente à amônia, tendo um custo energético menor que o despendido pela proteína bruta.

Na pecuária leiteira, a reprodução constitui-se num dos maiores fatores relacionado com a eficiência produtiva da propriedade. No entanto, entre os fatores que afetam a reprodução dos animais, a nutrição vem se destacando como um dos mais importantes (ASELTINE, 1989; BLANCHARD et al., 1990; SANTOS et al., 1994; FUCK et al., 2000) e a proteína, especificamente, tem sido extensivamente revisada nas últimas décadas como um dos fatores que afeta a reprodução. CARROL et al. (1988) demonstraram que o aumento na concentração de proteína bruta na dieta de 13 para 20% (MS) em vacas no início de lactação foi correspondida por um aumento na produção de leite, entretanto, muitos trabalhos têm mostrado que altas concentrações de proteína na dieta estão negativamente correlacionado com a eficiência reprodutiva (FOLMAN et al., 1981; FERGUNSON e CHALUPA, 1989; ELROD e BUTLER, 1993a).

Existem vários fatores que podem estar relacionado com o efeito da proteína na reprodução, entre eles, a concentração de uréia e amônia no sangue (SONDERMAN e LARSON, 1989; BUTLER et al., 1996), pH do útero (ELROD e BUTLER, 1993b), concentração de progesterona, colesterol (FERGUNSON e CHALUPA, 1989) e insulina (BLAUWIEKEL e KINCAID, 1986; GARCIA-BAJALIL et al., 1998a). Desta forma, o objetivo desta revisão é discorrer sobre alguns dos pontos importantes relacionados com o fornecimento de nitrogênio

não protéico para vacas leiteiras de alta produção, caracterizar sua ação na produção de leite e sua eficiência reprodutiva.

## 2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA URÉIA

A uréia é solúvel em água, álcool, composto orgânico sólido, possui cor branca e é cristalizado através do sistema prismático. Quimicamente, é classificada como amida, daí ser considerada um composto nitrogenado não protéico (NNP), possui em sua composição pequena quantidade de ferro e chumbo, que não são considerados tóxicos (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição da uréia encontrada no Brasil.

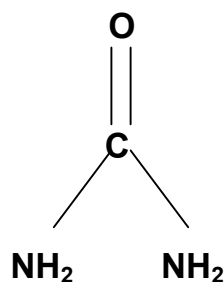
Compostos	Proporção (%)
Nitrogênio	46,4
Biureto	0,55
Água	0,25
Amônio livre	0,008
Cinza	0,003
Ferro + Chumbo	0,003

A uréia é obtida através da síntese da amônia com o gás carbônico, em um reator, sob condições de elevada temperatura e pressão. A amônia na presença de  $\text{CO}^2$  do ar dá a formação do carbamato de amônia. E, finalmente, esse produto, sob determinada pressão e temperatura, é decomposto em uréia e água.

A reação não se processa integralmente, necessitando de purificação, pois permanece no reator a uréia, carbamato de amônia, água e excesso de amônia. Nesta fase a mistura passa através das torres separadoras de alta pressão e de baixa pressão, a vácuo, onde se obtém uma solução de água-uréia. Os gases  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}$  e  $\text{H}_2\text{O}$  que saem da seção de purificação são absorvidos na seção de recuperação retornando para o reator como solução de reciclo. Assim, a fórmula da uréia é:



ou



Após a ingestão pela vaca, a uréia é hidrolisada pela ação da urease sintetizada pelas bactérias do rúmen, produzindo amônia e dióxido de carbono. A amônia é o composto central para a síntese de proteína no rúmen, sendo esta incorporada na proteína microbiana (principalmente bactérias e de modo mais reduzido em protozoários e fungos). Desta forma, a uréia não pode ser considerada uma proteína e sim um composto nitrogenado não protéico. No entanto, para se calcular o percentual de proteína bruta ou total em determinado alimento, multiplica-se o percentual de nitrogênio existente pelo fator 6,25 (100 dividido por 16% de nitrogênio em média nas proteínas). Da mesma forma, para se calcular a quantidade de equivalente protéico da uréia ou outra fonte protéica (tiuréia, biureto, di-ureído-isobutano, ácido úrico etc) basta multiplicar o teor percentual de nitrogênio pelo fator 6,25. Assim, para a uréia o equivalente protéico será de 290%, ou seja,  $46,4\% \text{N} \times 6,25$ .

A amônia pertence à classe de substâncias chamadas eletrólitos fracos e, em solução, suas duas formas, a ionizada ( $\text{NH}_4$ ) e a não ionizada ( $\text{NH}_3$ ), estão em equilíbrio e as respectivas concentrações dependem do pH e da temperatura (VISEK, 1984). Baseado em princípios físico-químicos, deduziu-se que as membranas celulares de mamíferos são altamente permeáveis à forma não ionizada  $\text{NH}_3$  e que um rápido equilíbrio entre as formas  $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4$  é estabelecido. A variação no pH através das membranas acarreta na formação de gradientes, desta maneira, ocorre concentração de amônia dentro dos compartimentos com menor pH (VISEK, 1984).

A absorção de amônia é provavelmente passiva na forma não ionizada  $\text{NH}_3$  (SMITH, 1975), isto é, essa passa através das membranas no sentido de uma concentração fisiológica menor (gradiente fisiológico). A quantidade de amônia na forma não ionizada no rúmen depende do pH e da quantidade total de amônia. O pH parece ser o fator mais importante na determinação da quantidade de amônia absorvida, sendo a proporção de amônia na forma não ionizada pequena (0,38 a 2,50% para pH de 6,62 a 7,42). Para que se estabeleça rapidamente o equilíbrio da amônia que sai do meio, a forma não ionizada é rapidamente protonada para a forma ionizada:  $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{NH}_4$  (VISEK, 1984, HUNTINGTON e ARCHIBEQUE, 1999). Uma vez que a concentração de amônia na circulação periférica é mantida a baixos níveis devido à conversão de amônia a uréia no fígado, existe um gradiente permanente que permite a absorção da amônia em excesso à capacidade de utilização dos microrganismos.

### 3. DEGRADAÇÃO DA PROTEÍNA NO RÚMEM

As proteínas dos alimentos, mais as proteínas endógenas da saliva, as células epiteliais descamadas e os restos dos microrganismos lisados, juntos, constituem o pool de proteínas potencialmente fermentáveis no rúmen (NOLAN, 1993), sendo que as proteínas constituem os principais compostos nitrogenados presentes nas forragens (NOLAN, 1993; VAN SOEST, 1994).

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

Estudos diferenciados entre bactérias e protozoários têm mostrados que ambos possuem atividade proteolítica, mas a atividade específica da fração bacteriana tem se mostrado de 6 a 10 vezes maior que a dos protozoários (COTTA e HESPELL, 1986). Isto pode ser explicado em parte pelo mecanismo empregado na degradação protéica. Enquanto que as bactérias seguem os passos convencionais citados anteriormente, nos protozoários, o mecanismo parece se iniciar com o engolfamento de pequenas partículas alimentares e bactérias (TAMMINGA, 1979). Diferenças quantitativas na atividade proteolítica entre protozoários e bactérias foram descritos por BROCK et al. (1982) e são demonstrados na Tabela 1.

TABELA 1 - Hidrólise de azocaseína em tampão "in vitro":

Amostra	Hidrólise ( $\mu\text{g}/\text{hora}$ )	EP	Relação
Bactérias	152,6	10,6	100%(10,6)
Protozoários	14,41	0,8	9,44%(1)

Fonte: Adaptado de BROCK et al. (1982), EP = erro padrão.

Dentro do ambiente ruminal, a atividade proteolítica parece estar concentrada em grande maioria na fração particulada (BROCK et al., 1982) (Tabela 2).

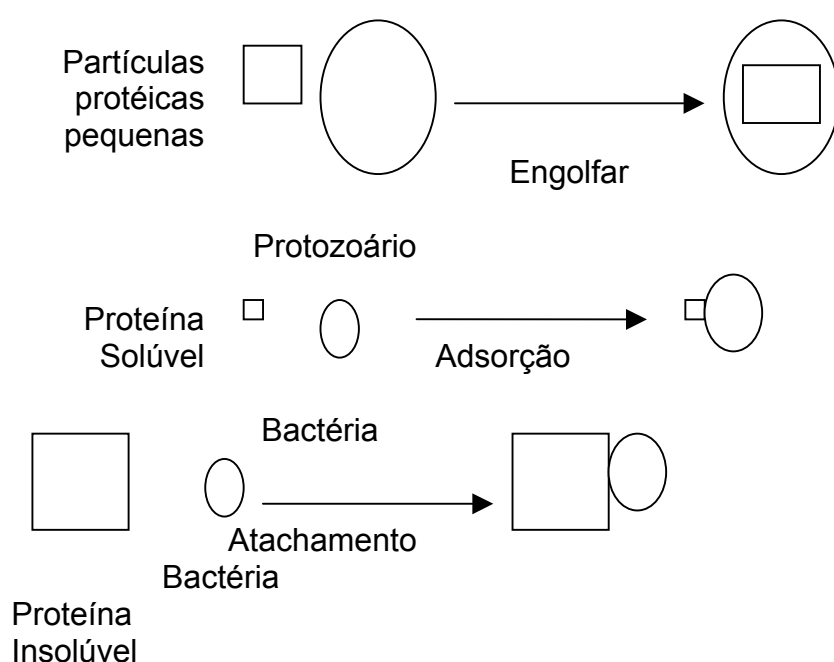
TABELA 2 - Distribuição da atividade proteolítica no conteúdo ruminal bovino.

Fração do conteúdo ruminal	Atividade proteolítica	Atividade Total (%)	Atividade Relativa (%)
Misto	1205	100	
Partículas	1110	92	75
Líquido	369	31	25

Fonte: Adaptado de BROCK et al. (1982).

Os compostos solúveis no rúmem são atacados mais rapidamente e digeridos de forma mais completa do que os compostos insolúveis devido em parte a diferenças no acesso microbiano (OWENS e ZINN, 1988; NOLAN, 1993). O NRC (1985) afirma que parte das proteínas podem ser hidrolizadas diretamente a partir da fração particulada, sem necessariamente passar pelo estado solúvel. Atualmente, a solubilidade é utilizada mais como índice de taxa do que de extensão de proteólise (OWENS e ZINN, 1988).

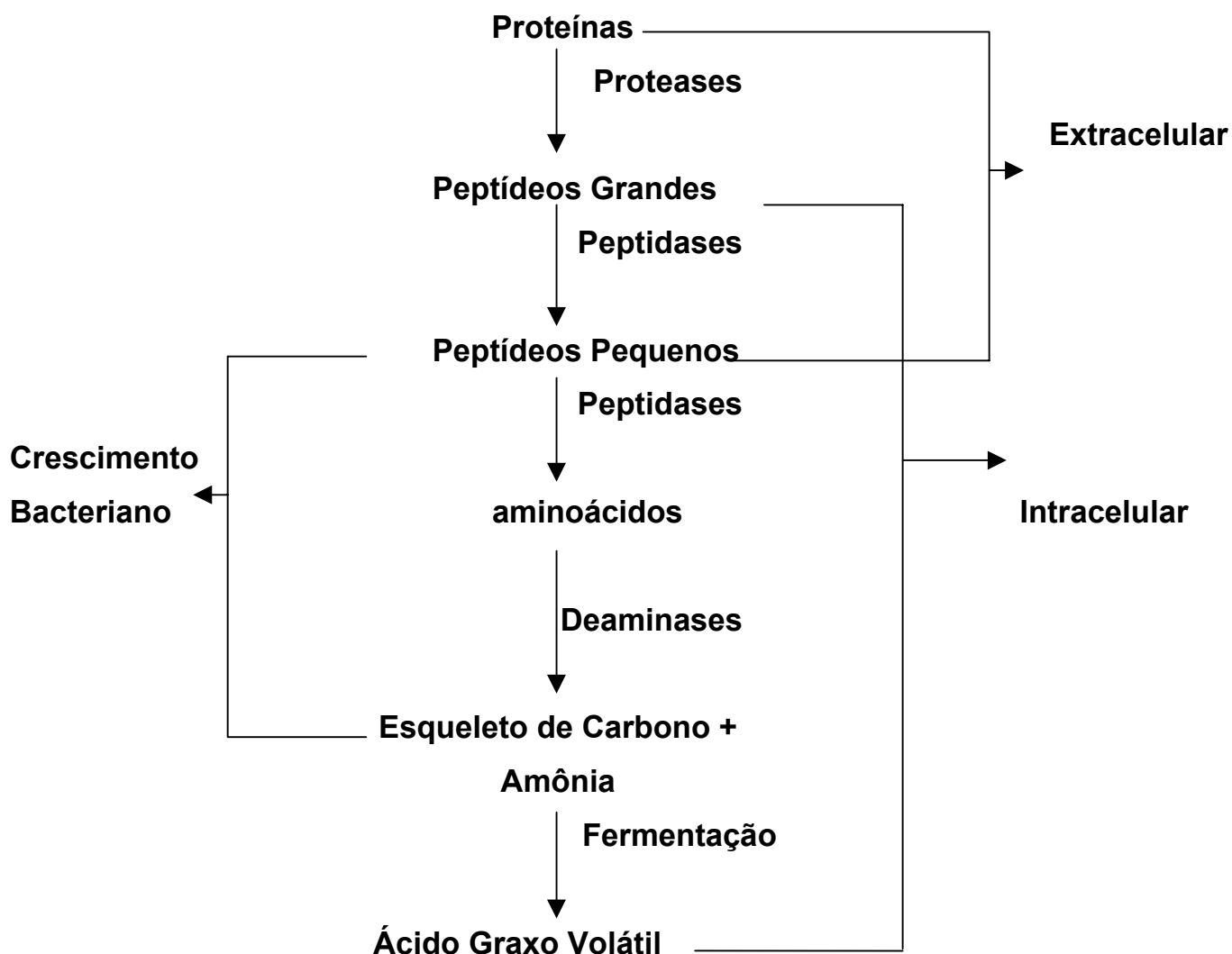
O primeiro passo para que se efetive a proteólise dos compostos dietéticos é a adsorção, ou da proteína solúvel à superfície bacteriana (NUNGENT e MANGAN, 1981) ou da bactéria à partícula insolúvel de proteína (BRODERICK et al., 1991), o que confirma a não necessidade da total solubilização da fração protéica para que ocorra o ataque microbiano. No caso de protozoários, o contato inicial ocorre pelo engolfamento de pequenas partículas de proteínas (Figura 1).



Fonte: Adaptado de BRODERICK et al. (1991).

FIGURA 1. Ataque de protozoários e bactérias a partículas protéicas no rúmem.

As enzimas proteolíticas estão intimamente associadas à parede celular bacteriana (NRC, 1985; OWENS e ZINN, 1988) explicando a necessidade de adsorção inicial à partícula protéica para que se tenha início ao processo de proteólise. A hidrólise da proteína pelas enzimas microbianas leva à liberação de oligopeptídeos, os quais são então quebrados em pequenos peptídeos e aminoácidos (WALLACE e COTTA, 1988), tornando-se prontamente disponíveis para absorção pelas bactérias, ocorrendo então, internamente, pela ação das endopeptidases, o complemento do processo de hidrólise protéica (Figura 2).



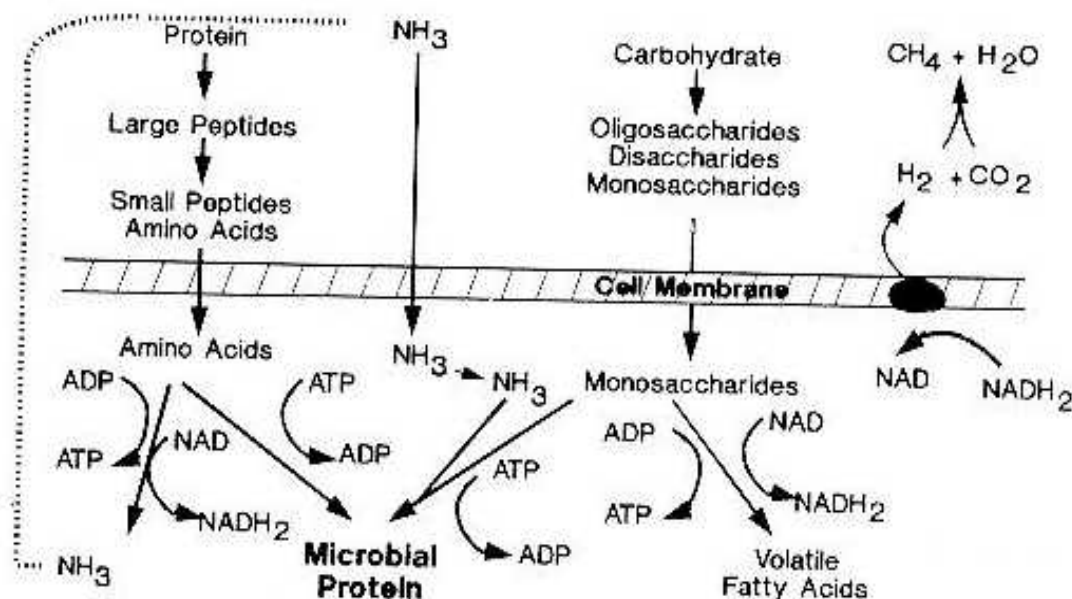
Fonte: COTTA e HESPELL (1986).

FIGURA 2 - Processo seqüencial de degradação de proteínas por bactérias.

No processo de adsorção, algumas bactérias parecem utilizar preferencialmente peptídeos a aminoácidos, mas a razão não é bem conhecida. Isto pode simplesmente ocorrer pelo fato de que, a utilização de peptídeos pode consistir de uma vantagem competitiva sobre a clivagem até aminoácidos, podendo haver maior eficiência em termos de custo de ATP por mol. de aminoácido (NOLAN, 1993).

O metabolismo bacteriano dos aminoácidos absorvidos é complexo e altamente integrado. Alguns são incorporados diretamente na proteína microbiana, enquanto que o restante é deaminado, formando  $\alpha$ -cetoácidos e amônia, sendo os primeiros utilizados no processo de fermentação para produção de energia e a amônia excretada no meio (NOCECK e RUSSEL, 1988; BRODERICK et al., 1991). No interior do microrganismo podem ocorrer

normalmente reações de transaminação, utilizando amônia e  $\alpha$ -cetoácidos, a fim de sintetizar aminoácidos necessários para a síntese e momentaneamente não disponíveis no meio intracelular (Figura 3). Segundo TAMMINGA (1979) alguns microrganismos podem realizar a clivagem do aminoácido simplesmente pelo fato de não possuir transportadores específicos para excretá-lo. Poucas espécies utilizam os aminoácidos como fonte primária de energia (RUSSEL et al., 1991).



Fonte: NOCECK e RUSSEL (1988).

FIGURA 3 - Integração proteína/energia no processo de síntese de proteína microbiana.

Sendo que, para que haja incorporação de aminoácidos na proteína do microrganismo, há concomitantemente a necessidade de disposição de energia para que o processo seja efetivado, como observado na Figura 3. Desta forma, para que se reduza as perdas de compostos nitrogenados ou, se maximize a fixação em proteína microbiana, há necessidade de sincronização das taxas de degradação de proteína e carboidratos no rúmen (RUSSEL et al., 1992) fornecendo-se assim energia simultaneamente à síntese de proteína microbiana.

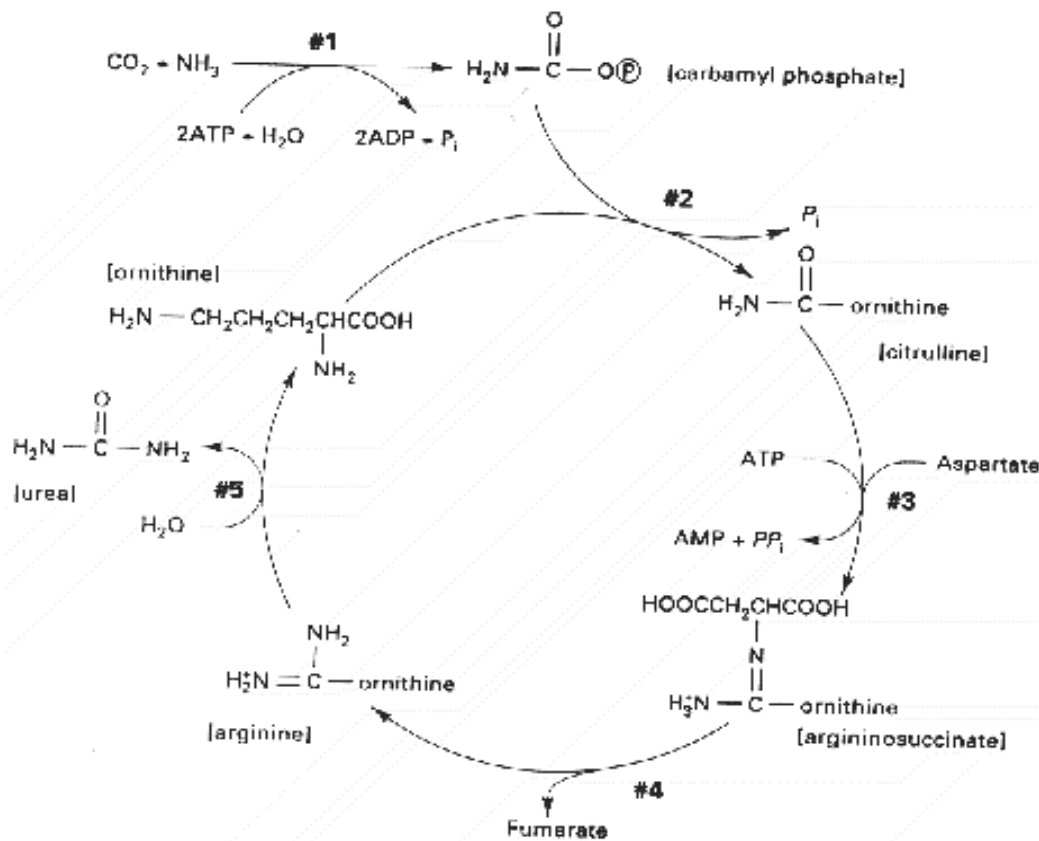
O comportamento de incorporação de aminoácidos em proteína microbiana não é homogêneo em toda a flora ruminal. Segundo RUSSEL et al. (1992) os microrganismos ruminais diferem em dois grupos básicos: o primeiro, que degrada carboidratos não estruturais (CNE), utiliza peptídeos e amônia para síntese de proteína microbiana, numa razão média de 2/1 (66% de peptídeos e 34% de N amoniacal); o segundo grupo, que degrada carboidratos estruturais (CE) somente é capaz de utilizar amônia para síntese microbiana. O processo de captação de nitrogênio do meio, na forma de amônia é realizado por dois mecanismos enzimáticos: o primeiro é chamado de glutamato sintetase e não requer energia; o segundo, chamado de glutamina sintetase, exige ATP, e é mais amplamente utilizado com baixos níveis de amônia no meio (ERFLE et al., 1977). Desta forma, a amônia liberada no processo de fermentação de aminoácidos, juntamente com o N amoniacal presente no meio pode ser incorporado novamente ao processo, na forma de proteína. Porém, em condições normais, a produção de amônia no rúmen, muitas vezes, excede a sua capacidade de utilização, ocorrendo acúmulo e posterior remoção do ambiente ruminal, principalmente via difusão, podendo posteriormente retornar ao rúmen ou ser perdida como uréia através da urina (RUSSEL et al., 1991; COELHO da SILVA, 1992). Segundo RUSSEL et al. (1992) quanto maior for a degradabilidade da proteína da ração, maior será a produção de amônia e possivelmente, maiores serão as perdas urinárias de compostos nitrogenados na forma de uréia.

#### 4. CICLO DA URÉIA E A RECICLAGEM DE NITROGÊNIO

A proteína dietética é amplamente degradada no rúmen, gerando grande quantidade de amônia. Esta é potencialmente incorporada pelos microrganismos, principalmente os que degradam carboidratos estruturais, na forma de proteína microbiana. Porém, em muitas ocasiões a amônia liberada suplanta a capacidade de captura e metabolismo pelos microrganismos. Segundo NOLAN (1993), o N amoniacal do rúmen pode ser removido, além da fixação na proteína microbiana, por difusão através da parede do rúmen ou do fluxo de fluido para o trato posterior, porém, esta segunda via é quantitativamente menos importante.

A amônia absorvida através da parede ruminal é imediatamente transportada pelo sistema porta para o fígado, onde é intensamente metabolizada, pois sua forma livre é imensamente tóxica para o animal.

Nos mamíferos, a amônia absorvida no trato gastrointestinal (nos ruminantes, principalmente no rúmen - retículo), ou ainda liberada durante o catabolismo de aminoácidos e ácidos nucléicos, é convertida no fígado a uréia, sendo posteriormente excretada na urina (NOLAN, 1993; BRODY, 1994), conforme o ciclo descrito a seguir, chamado de ciclo da uréia (Figura 4).



Fonte: BRODY (1994).

FIGURA 4 - Ciclo da uréia.

Como observado na Figura 4, para que haja a formação de uma molécula de uréia, são necessários três moléculas de ATP, o que acaba se tornando extremamente custoso energeticamente para o animal, porém, a cada volta do ciclo, é formada uma molécula de fumarato que pode ser incorporada ao ciclo do ácido cítrico, potencializando a formação de duas moléculas de ATP, o que nos leva a um gasto de apenas um ATP por molécula de uréia formada.

Quanto ao destino final da uréia produzida no metabolismo da amônia, os ruminantes assumem uma característica importante frente aos outros mamíferos, que é a possibilidade do retorno (reciclagem) deste nitrogênio, agora na forma de uréia para o trato digestivo,

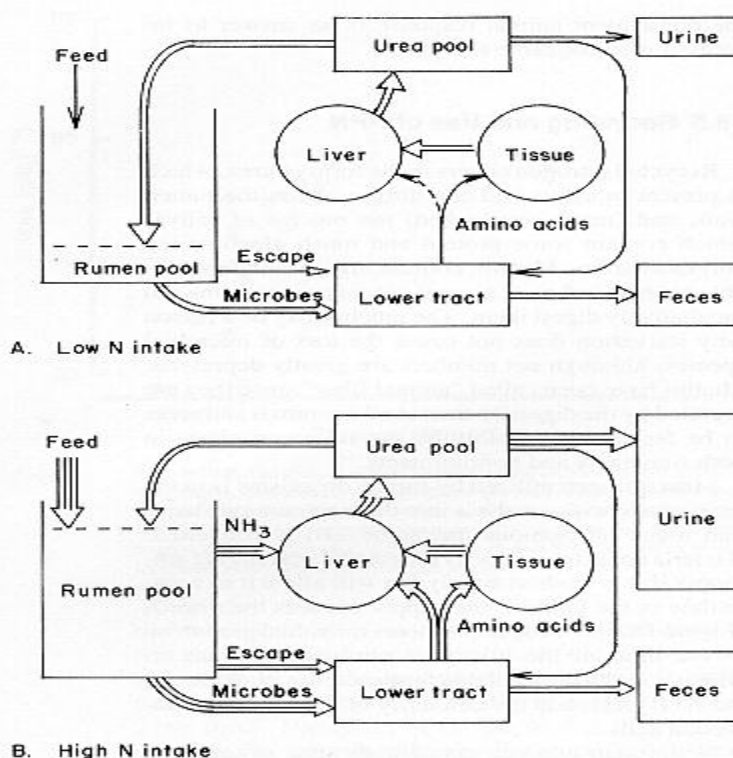
notadamente no rúmen retículo (NRC, 1985). A reciclagem de uréia ocorre principalmente através da saliva ou por difusão através da parede ruminal (VAN SOEST, 1994) e ao chegar ao rúmen é prontamente degradada a amônia, mormente pelas bactérias ureolíticas, que habitam principalmente a superfície epitelial do órgão (COELHO da SILVA e LEÃO, 1979), tornando o nitrogênio novamente disponível para os microrganismos.

A concentração de amônia no rúmen é função do equilíbrio entre as taxas de produção e absorção (BRODERICK et al., 1991). Sua absorção é feita por difusão passiva através da parede ruminal (NOLAN, 1993) e está intimamente ligada à concentração de sua forma não ionizada no fluido ruminal (potencialmente absorvível), sendo portanto função de sua concentração total e do pH do meio (Siddons et al., 1985, citado por NOLAN, 1993).

Segundo VAN SOEST (1994), o nível de amônia no sangue tende a ser menor que o do rúmen, ao passo que, o nível de uréia é menor no rúmen que no sangue, criando um potencial favorável de transferência mútua entre os dois compostos favorecendo a reciclagem. Esta, torna-se fundamental quando o animal se encontra exposto a baixos níveis nutricionais, o que torna os ruminantes aptos a conservar melhor a proteína que outras espécies sob estas condições (Kennedy e Milgan, 1980, citados por BRODERICK et al., 1991).

O NRC (1985) considera que, a quantidade de nitrogênio reciclado na forma de uréia para o rúmen é função do animal e das condições dietéticas e sugere a equação descrita abaixo para o cálculo da reciclagem total de nitrogênio:  $Y = 121,7 - 12,01X + 0,3235X^2$   
Onde: Y = N-uréia reciclado (% do N ingerido); X = Proteína dietética ingerida.

Para VAN SOEST (1994) a quantidade de uréia reciclada é relativamente independente do N dietético, uma vez que o pool corporal de uréia está sob controle fisiológico homeostático, esta tenderia a ser constante. Desta forma, o que variaria seria a quantidade relativa ou eficiência de reciclagem do nitrogênio. Em condições de baixo plano nutricional protéico, as perdas na urina seriam relativamente menores, aumentando a proporção reciclada de N, situação inversa em uma nutrição protéica mais elevada (Figura 5).



Fonte: VAN SOEST (1994).

Figura 5 - Comparação entre o metabolismo de N a baixo e alto consumo de N, considerando a mesma energia dietética.



A Tabela 3 mostra a relação de nitrogênio reciclado em função de seu consumo, de acordo com a equação descrita pelo NRC (1985):

Tabela 3 - Proporção de N reciclado em função do N ingerido.

Proteína ingerida (% MS)	N reciclado (% N ing.)
1	110,01
2	98,34
3	88,58
5	69,74
10	33,95
12	24,16

FONTE: NRC (1985).

A reciclagem assume portanto, grande importância para manutenção dos níveis mínimos de N ruminal para que se observe ao menos os níveis mínimos de produtividades sob baixos planos nutricionais. Segundo MINSON (1990) para que haja funcionamento do rúmen sem comprometimento das atividades microbiológicas básicas, há necessidade de ao menos 7% de proteína bruta ( $\approx$  1% de N) na MS ruminal. O NRC (1989) recomenda que, para que sejam observados níveis aceitáveis de digestibilidade ruminal da MS seja mantida uma concentração de amônia ruminal igual ou superior a 5 mg/dl.

## 5. PROTEÍNA E REPRODUÇÃO

Vários trabalhos têm mostrados o efeito da concentração de proteína bruta e sua relação com a reprodução de vacas leiteiras. O NRC (1989) recomenda que vacas leiteiras de alta produção devem receber dietas com 16 a 17% de proteína bruta (PB), 35% de proteína não degradável (PNDR) e 65% de proteína degradada no rúmen (PDR). Entretanto, nas três primeiras semanas pós-parto, o mesmo NRC (1989) recomenda que as dietas devam ser mais condensadas (18,5 a 19% de PB e 38-40% de PND) para compensar a baixa ingestão de matéria seca, baixando logo após para os níveis anteriormente citados.

Desta forma, dietas com excesso de PB ou PDR, falta de carboidratos fermentáveis, ou assincronia entre degradação da proteína e a disponibilidade de energia, promove grande concentração de uréia no sangue e ou excreção de uréia no leite e urina (FERGUNSON e CHALUPA, 1989; GARCIA-BOJALIL et al., 1998b). FERGUNSON et al. (1993) reportaram que a taxa de concepção no rebanho diminui quando o nível de uréia no sangue está acima de 20 mg/dl.

Os mecanismos postulados pela qual a proteína bruta afeta a taxa de fertilidade estão resumidos abaixo (SANTOS e AMSTALDEN, 1998):

- Componentes tóxicos do metabolismo do nitrogênio (amônia ou uréia) pode prejudicar os espermatozoides, óvulos, ou o desenvolvimento inicial do embrião;
- Subprodutos do metabolismo nitrogenado pode afetar o ambiente uterino e alterar a viabilidade dos espermatozoides, óvulos e embriões;
- Intensificação dos efeitos do balanço energético negativo no pós-parto;
- Redução da concentração sangüínea de progesterona e outros hormônios;
- Supressão da função imune.

Muitos trabalhos têm mostrado o efeito da concentração de PB, PDR na dieta, uréia ou amônia no sangue em relação a taxa de fertilidade (Tabela 4).

TABELA 4 - Taxa de prenhez (TP) e concentração de nitrogênio uréico sanguíneo (BUN) de vacas em lactação alimentadas com níveis de proteína bruta moderado (13-16%) ou elevado (19-21%).

Referência	PB (%) na dieta			
	13-16		19-21	
	TP (%)	BUN mg/dl	TP (%)	BUN mg/dl
Barton et al., 1996	40,6	8,5	43,7	22,1
Canfield et al., 1990 <sup>1</sup>	48	12	31	19
Jordan & Swanson, 1970 <sup>1</sup>	53	NR <sup>2</sup>	40	NR
Folman et., 1981	56	8,8	44	15,4
Kaim et al., 1983 <sup>1</sup>	57	9	43	17
Carrol, et al., 1988	64	11	56	24
Bruckental et al., 1989	65	25	52	32
Elrod & Butler, 1993 <sup>1</sup>	83	<16	62	>16
Howard et al., 1987	87	15	85	26
Média	61,5	12,80	50,70	22,20

<sup>1</sup> P<0,05

<sup>2</sup> Dados não relatados.

Fonte: SANTOS e AMSTALDEN (1998).

Apesar do fato que vários estudos terem sido conduzidos para avaliar o efeito da proteína no tecido reprodutivo, o mecanismo exato pelo qual a excesso de proteína bruta ou proteína degradável na dieta possa prejudicar negativamente a reprodução não tem sido elucidado (SANTOS e AMSTALDEN, 1998).

Logo abaixo nós iremos discutir algumas das causas possíveis pelo qual a proteína afeta a fertilidade.

## 5.1 - pH E FLUÍDO UTERINO

JORDAN e SWANSON (1979) já afirmavam em seus trabalhos que o efeito provável do excesso de PB na dieta poderia estar relacionado com alterações de pH no ambiente uterino.

Entretanto, um grande avanço nos estudos relacionando proteína na dieta com pH uterino ocorreram somente em 1993 quando ELROD e BUTLER (1993a) conseguiram introduzir um cateter de Foley através da cervix, (Figura 4) e dentro deste passar um eletrodo flexível e desta forma conseguir medir pH uterino.

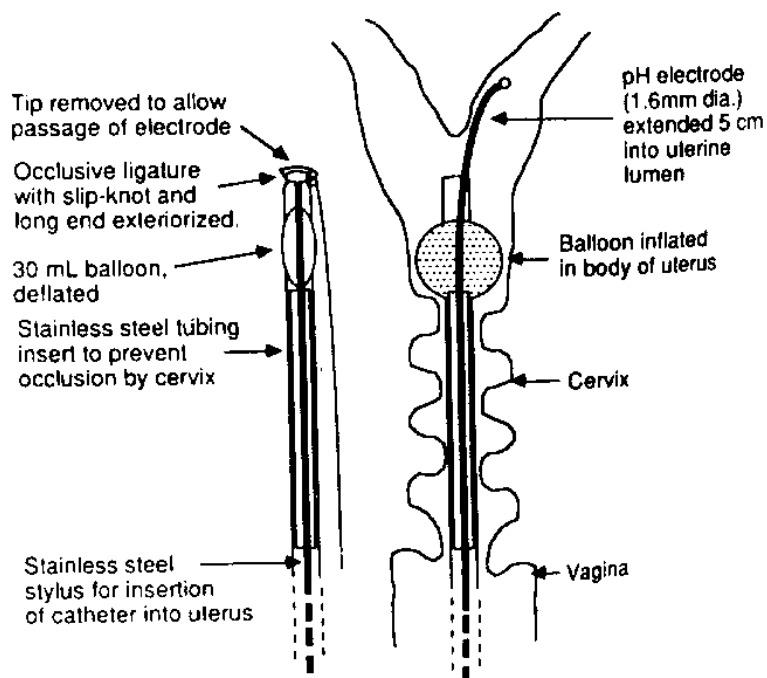


FIGURA 4 - Detalhe da modificação do cateter de Foley para medir o pH uterino (ELROD e BUTLER, 1993a).

Os autores realizaram 2 experimentos, no primeiro trabalharam com 80 novilhas da raça Holandesa, as quais foram divididas em 2 tratamentos: o primeiro com 15,45% de PB e 73,0% de PDR, e o segundo com 21,8% de PB e 82,5% de PDR por um período de 4 semanas. Eles concluíram que os animais do tratamento 1 apresentaram maior taxa de concepção, menor concentração de uréia plasmática (Tabela 5), quando comparado aos animais do tratamento 2.

TABELA 5 - Taxa de concepção no primeiro serviço e concentração de uréia no plasma de novilhas alimentadas com dois níveis de proteína bruta na dieta.

Parâmetros	T1	T2
Taxa de concepção no primeiro serviço (%)	82% a	61% b
Concentração de uréia no plasma (mg/dl)		
Pré-alimentação	10,2 ± 0,17 a	14,8 ± 0,19 b
Pico (8 horas após a alimentação)	17,5 ± 0,22 a	23,6 ± 0,23 b

<sup>a,b</sup> Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

T1 = dieta com 15,45% de PB e 73,0% de proteína degradável no rúmen (PDR), T2 = dieta com 21,8% de PB e 82,5% de PDR.

Fonte: ELROD e BUTLER (1993a).

No segundo experimento, os autores utilizaram 32 novilhas recebendo as mesmas dietas do experimento 1, no dia do cio e no 7º dias após o mesmo, o pH uterino foi medido a cada 4 horas durante um período de 24 horas, com o auxílio de um cateter introduzido na cervix e fixado no corno uterino. Os autores verificaram que no dia 7 após o cio o grupo alimentado com alta quantidade de proteína na dieta apresentava um pH uterino mais ácido do que os animais alimentados com baixa proteína na dieta, entretanto, no dia do cio não houve diferença no pH do útero (Figura 5). Desta forma, concluíram que o excesso de PB na dieta atua sob um mecanismo não definido o qual diminui o pH uterino.

JORDAN et al. (1983) afirmaram o efeito detrimental do excesso de proteína na dieta é uma alteração na composição do fluido uterino em (sódio, magnésio e fósforo) durante a fase luteal do ciclo estral, mas não durante o estro, o que desta forma causaria uma diminuição do pH uterino.

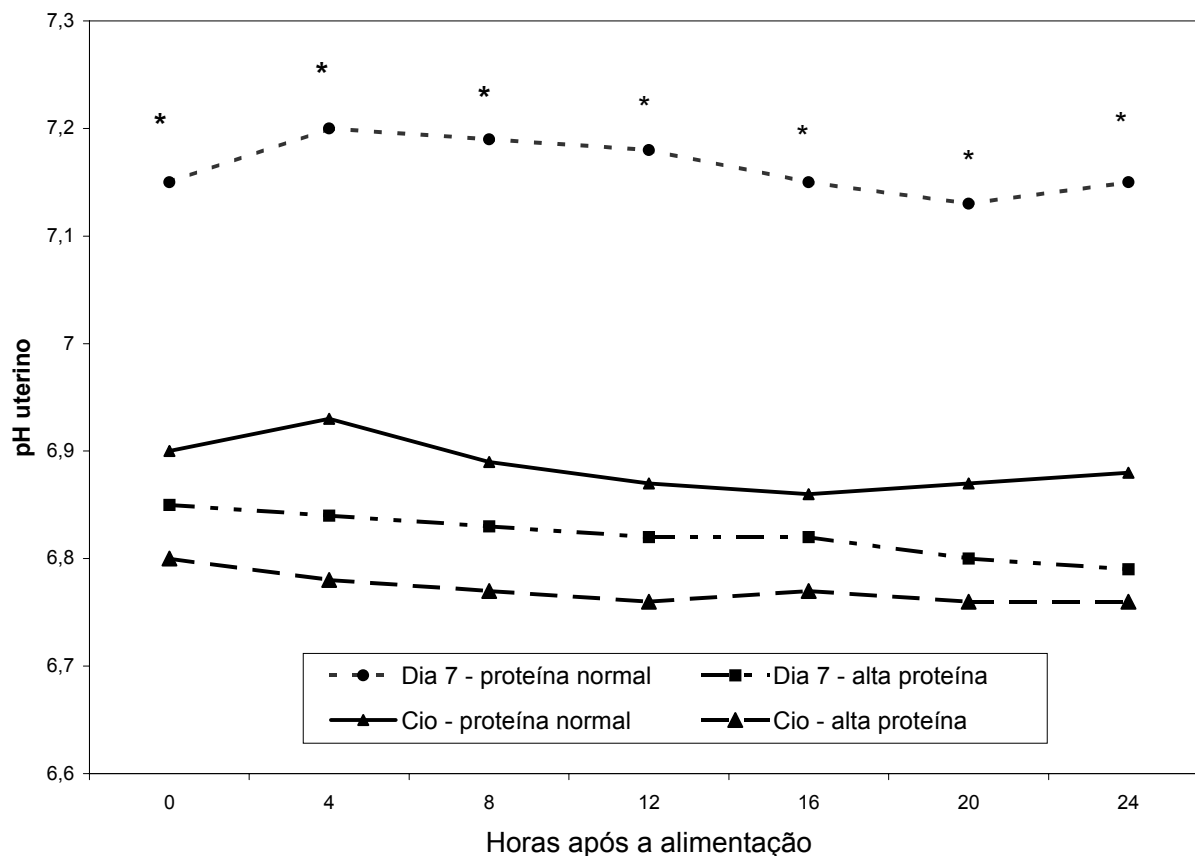


FIGURA 5 - Efeito do nível de proteína na dieta (15,45%-normal ou 21,8% PB- alto) no pH uterino no dia do cio e 7 dias após o mesmo (Adaptado de ELROD e BUTLER, 1993a).

Para comprovar esta hipótese ELROD e BUTLER (1993b) realizaram um outro experimento, com o objetivo de verificar se esta alteração no pH uterino, que ocorre no útero devido ao excesso de PB na dieta, era verificado em outros órgãos e se o efeito do excesso de PDR poderia ser diminuído com a substituição por uma fonte de proteína menos degradável. O experimento foi realizado com 36 vacas da raça Holandesa, no início da lactação, divididas em três tratamentos: o primeiro (T1) foi formulado para atender as exigências dos animais, com 18,08 % PB e 65% de PDR, o segundo (T2) com 19,80 % de PB e 55,10 % de PDR e o terceiro (T3) com 20,37 % de PB e 75,4 % de PDR. Após 2 semanas de alimentação o pH do útero, sangue, saliva e urina foi determinado sete dias após o cio. Os autores verificaram que não existiu efeito do tratamento no pH do sangue, saliva e urina, em contraste, no o pH uterino foi menor nos tratamentos com alta PB na dieta (Tabela 6), independentemente da degradabilidade.

TABELA 6 - Efeito do tratamento no pH uterino, sangüíneo, salivar e urinário no dia 7 do ciclo estral em vacas da raça Holandesa.

Fluído	Dia 7		
	T1	T2	T3
pH do útero	7,13 a	6,95 b	6,85 b
pH do sangue	7,38	7,36	7,34
pH da saliva	8,32	8,16	8,19
pH da urina	8,07	7,97	8,04

<sup>a,b</sup> Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

T1= dieta com 18,0% de PB e 65% de proteína degradável no rúmen (PDR), T2 = dieta com 19,8% de PB e 55,1% de PDR e T3 = dieta com 20,37% de PB e 75,4% PDR.

FONTE: ELROD e BUTLER (1993b).

Pode-se verificar que, tanto dietas com alta PB e alta PDR (T3), quanto baixa PDR (T2), afetou somente o pH uterino, não se verificando nenhum efeito em outros órgãos, e este por sua vez é determinado por alguns metabólitos da proteína ainda não conhecido. BUTLER (1997) afirmou que existe evidências *in vitro* que células endometriais respondem ao aumento de uréia na circulação aumentando a secreção de sódio e prostraglandina  $f2\alpha$ , este último quando em excesso prejudica o desenvolvimento e a sobrevivência dos embriões.

Alguns experimentos com ovelhas têm mostrados que a concentração de uréia nos fluídos do trato reprodutivo é alterado quando se eleva a quantidade de proteína bruta da dieta, e isto é um reflexo da concentração de uréia no sangue (DUBY et al., 1984; ABDUL-WAHID et al., 1986). BLANCHARD et al. (1990) afirmaram que alta concentração de PB ou PDR em alguns estudos pode diminuir a motilidade dos espermatozoides e a habilidade do mesmo para penetrar no muco cervical *in vitro*. Entretanto, mais estudos são necessários para comprovar está hipótese.

O efeito da proteína da dieta na qualidade dos embriões foi demonstrado por BLANCHARD et al. (1990) que conduziram experimento para verificar se a degradabilidade da proteína poderia alterar o número de embriões viáveis, os autores trabalharam com 28 vacas da raça Holandesa no início da lactação, com duas dietas: uma com 16% PB e 73% de PDR e a outra com 16% PB e 64% PDR, os animais foram superovulados no 12º dia após o estro com 50 mg de FSH (Hormônio Folículo Estimulante), administrada em doses decrescentes por um período de 4 dias. Os autores verificaram que não houve diferença no número de estruturas fertilizadas, não fertilizadas, números de embriões transferíveis e não transferíveis, entretanto a porcentagem de embriões fertilizados foi maior ( $P < 0,05$ ) no animais alimentados com 73% de PDR do que 64% de PDR na dieta.

Podemos concluir com estes trabalhos, que o importante, não é somente o nível de proteína na dieta, mas sim, a degradabilidade da mesma e a sincronização de degradação entre proteína e carboidrato no rúmen.

## 5.2 - INSULINA

Um outro fator que pode estar relacionado com o excesso de PB ou PDR na dieta de vacas em lactação é a insulina, que pode ser considerada um dos principais hormônios metabólicos relacionado com a reprodução. SPICER et al. (1995) afirmaram que a insulina tem um efeito direto na cultura de células ovarianas e estes efeitos incluem a estimulação da mitogênese das células ovarianas, produção de progesterona pelas células luteal e produção de andrôgenos pelas células da teca.

Também foram encontrados por BLAUWIEKEL e KINCAID (1986) os quais verificaram que os animais alimentados alta concentração de proteína bruta na dieta (19,0% PB) apresentaram maior concentração de insulina no soro ( $P < 0,05$ ) quando comparado com animais alimentados com um nível inferior de proteína bruta (14,30% PB). Entretanto, estes

resultados discordam daqueles encontrados por GARCIA-BAJALIL et al. (1998a) pois, estes verificaram que vacas leiteiras de alta produção alimentadas com dietas de alta proteína degradável apresentavam menor concentração de Insulina ( $P < 0,007$ ) quando comparado aos animais alimentados com baixa proteína degradável ( $0,55 \times 0,69$  ng/dl, respectivamente).

FERNANDEZ et al. (1988), também verificaram o efeito da toxicidade da  $\text{NH}_3$  na concentração de hormônios regulatórios em oito tourinhos da raça Hereford, eles injetaram cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) a uma taxa de  $12 \mu\text{mol NH}_4\text{Cl/kg}$  peso vivo/minuto durante 240 minutos, e compararam com valores antes e após a infusão. Os autores verificaram que a concentração de glicose e uréia aumentaram ( $P < 0,001$ ) 39 e 12% respectivamente, durante a infusão de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , a concentração de insulina diminuiu ( $P < 0,05$ ) de 26 até 46% durante a infusão e aumentou de 89 até 122% após infusão, ficando claro neste experimento que hiperamonemia pode causar problemas na insulina circulante, bem como no metabolismo de glicose.

Além do mais, este aumento ou diminuição na concentração de insulina pode estar associado com a relação acetato/propionato no rúmen, o propionato é um dos maiores precursores de glicose nos animais ruminantes, e este último está relacionado com as concentrações sanguíneas de insulina (McGLURE, 1994), bem como a quantidade de aminoácidos que chegam no intestino.

Desta forma existe discordância entre os resultados discutidos acima quanto ao efeito da PB ou PDR na dieta na concentração de uréia no sangue, sendo necessários mais estudos para determinar qual o tipo de relação existe entre os níveis de insulina e a degradabilidade da proteína.

### 5.3 - BALANÇO ENERGÉTICO

Vacas leiteiras de alta produção no início da lactação não conseguem consumir quantidade de nutrientes suficientes para atender a elevada produção de leite, desta forma estes animais entram em um balanço energético negativo durante um período de  $\pm 90$  dias, quando as vacas perdem peso, isto acontece mais intensamente nos primeiros 21 dias pós-parto (SANTOS et al., 1993).

GARCIA-BAJALIL et al. (1998a) realizaram um experimento com 45 vacas da raça Holandesa por um período de 120 dias pós-parto, os animais foram alimentados com duas dietas: 11,1 e 15,5% de proteína degradável no rúmen. Os animais alimentados com 15,5% de proteína degradável perderam duas vezes mais peso (Figura 5) do que aqueles alimentados com 11,1% PDR, a concentração de uréia aumentou de 17,10 mg/dl para 22,40 mg/dl naqueles animais alimentados com 15,5% PDR, os autores afirmaram que o excesso de amônia produzido no rúmen precisa ser transformado no fígado em uréia, e como dito anteriormente, este processo requer um alto custo energético, além de utilizar os intermediários do ciclo de Krebs ( $\alpha$ -cetogluturato), diminuindo o metabolismo energético do animal bem como a gliconeogênese.

Desta forma este desajuste no metabolismo intermediário são mecanismos potenciais os quais determinam como dietas com alto teor de proteína degradável no rúmen podem alterar a performance reprodutiva dos animais (GARCIA-BAJALIL et al., 1998b). SCHILO (1992) afirmou que o efeito da subnutrição na reprodução pode ser exercido em nível de hipófise, hipotálamo e ovários, e que o balanço energético negativo tem levado a uma diminuição da liberação de LH em vacas.

Peters et al. (1985) citado por SCHILO (1992) reportam que poucas vacas ovularam em resposta a administração pulsátil de LHRH quando os animais estavam em balanço energético negativo.

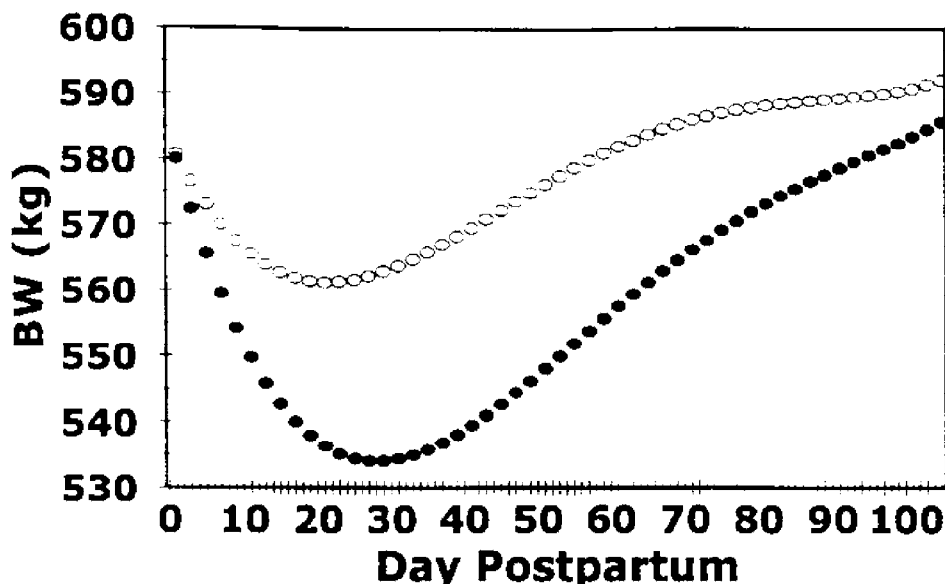


FIGURA 5 - Efeito da concentração de proteína degradável na dieta (11,1 % de proteína degradada no rúmen, (PDR) (o), e 15,7% PDR (•) na perda de peso de vivo de vacas leiteiras no início da lactação (GARCIA-BAJALIL et.al., 1998a).

STRANG et al. (1998) incubaram hepatócitos do fígado de bezerros em quatro níveis de ácidos graxos não esterificados, 0; 0,5; 1,0 e 1,5 mM, por um período de 36 horas, os autores verificaram que houve um aumento no acúmulo de triglicerídeo, entretanto, a capacidade de síntese de uréia pelos hepatócitos reduziu 40% conforme aumentava a concentração de triglicerídeo nos hepatócitos. Este é um dado muito importante pois durante o período pré-parto o consumo dos animais é reduzido 30% em média, não conseguindo ingerir nutrientes necessários para atender suas exigências nutricionais, desta forma, os animais mobilizam grande quantidade de ácido graxos não esterificados, os quais são esterificados no fígado em triglicerídeos.

Entretanto, os ruminantes, diferente dos animais monogástricos, não podem exportar eficientemente os triglicerídeos acumulados no fígado, e desenvolvem uma doença metabólica denominada de síndrome do fígado gordo (GRUMMER, 1995), desta forma, animais com este tipo de desordem metabólica podem ter capacidade diminuída na síntese de uréia, aumentando a concentração de amônia sangüínea, contribuindo para as várias etiologias das desordens reprodutivas (STRANG, 1998).

#### 5.4 - DINÂMICA FOLICULAR

O modelo de crescimento e regressão dos folículos em ondas é conhecido como dinâmica folicular (LUCY et al., 1991). As vacas geralmente exibem de duas ou três ondas de crescimento folicular, em cada onda um pool de folículos começam a crescer, sendo que posteriormente apenas um se torna o dominante e os restantes entram em atresia (LUCY, 1991).

GARCIA-BAJALIL et al., (1998b) realizaram um experimento com 45 vacas de raça Holandesa no início da lactação, com o objetivo de verificar o efeito da concentração de PDR referente as características reprodutivas, os animais foram divididos em dois tratamentos, ambos com 18% de PB na dieta: um com 11,1% e outro com 15,7% de PDR durante 9 semanas pós-parto. Os autores verificaram que os animais alimentados com alta quantidade de proteína degradável demonstraram menores atividades ovarianas. O número de folículos médios (2,1 x 1,7), tamanho do maior folículo (24,8 x 18,9 mm) e área total dos folículos (27,9 x 21,3 mm), tamanho do corpo lúteo (18,4 x 12,2 mm), todavia, o número de corpo lúteo (1,7 x

1,1) foi maior para os animais alimentados com 15,7% PDR e a concentração de progesterona foi maior para os animais alimentados com 11,1% de PDR.

Em outro experimento, GARCIA-BAJALIL et al. (1994) encontraram resultados diferentes ao trabalhar com 12 vacas da raça Holandesa não lactantes divididos em dois tratamentos: um com 12,5% PB e o outro com 27,4% PB, as dietas foram fornecidas por um período de 130 dias, a partir de 35 dias do início dos tratamentos, o ciclo estral dos animais foram sincronizados, e do dia 0 (cio) até o dia 10 foi monitorado o crescimento folicular com auxílio de um ultrason. Os autores verificaram que vacas alimentadas com alta concentração de proteína na dieta apresentavam maiores concentrações de uréia no soro sanguíneo (21,30 x 9,80 mg/dl) e pH do rúmen superior (6,67 x 6,56) quando comparado aos animais alimentado com baixa proteína na dieta, entretanto, o diâmetro máximo do folículo pré-ovulatório (16,40 x 15,80 mm) e o número folículos ovarianos maior que 3,0 mm não variaram entre os tratamentos.

Desta forma, parece provável que o efeito concentração de proteína da dieta na dinâmica folicular esteja associado com o efeito da amônia no metabolismo energético, do que qualquer efeito direto no crescimento folicular.

## 5.5 - URÉIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

Podemos verificar nos trabalhos discutidos acima que o excesso de proteína na dieta ou a degradabilidade da mesma afeta diretamente a eficiência reprodutiva dos rebanhos leiteiros, possivelmente pela elevada produção de amônia ruminal e conseqüentemente aumento nas concentrações sanguínea de uréia, o que acarretaria em queda no pH uterino, morte embrionária, entre outros fatores. Este fato nos leva a pensar que ao se fornecer uréia na dieta de vacas leiteiras estaremos aumentando as concentrações ruminiais de amônia e sanguínea de uréia, no entanto este quadro pode ocorrer tanto com o excesso de proteína verdadeira quanto de uréia.

O que devemos fazer é “balancear” corretamente as quantidades de energia fermentáveis e a proteína bruta da dieta, independente da fonte de nitrogênio para microrganismos. Isto ficou bem evidenciado no trabalho realizado por BARRETO (2000), o autor forneceu três níveis de uréia (0, 65 e 125 gr de uréia/dia) nas dietas de vacas da raça Nelore, os animais foram superovulados e seus embriões coletados, classificados e cultivados *in vitro* até a eclosão. Não foram observadas diferenças no ganho de peso diário das vacas (428,00; 475,00 e 493,00 g/dia), na concentração de uréia plasmática (18,35; 20,33 e 23,69 mg/dl), no número total de estruturas coletadas (4,17; 8,42 e 7,00) no número de embriões viáveis (2,25; 3,50 e 4,33), bem como na taxa de eclosão *in vitro* (81,48; 78,57 e 84,62 %). O autor concluiu que quando a uréia é fornecida com fontes energéticas adequadas, a mesma pode substituir integralmente o farelo de soja em rações concentradas.

GARCIA-BAJALIL et al. (1994) trabalharam com vacas da raça Holandesa não lactantes, onde avaliaram o efeito de dois níveis de proteína na dieta (12,3 e 27,4% PB), a concentração de uréia no plasma foi 9,8 e 21,3 mg/dl, respectivamente, os autores não conseguiram observar redução de qualidade ou número de embriões viáveis após a superovulação dos animais.

Neste ínterim, pode-se sugerir que mais importante do que a fonte de proteína, deve-se atentar para a quantidade, degradabilidade, densidade energética e a sincronização entre carboidrato e proteína no rúmen, otimizando desta forma, a produção microbiana e evitando elevadas concentrações de amônia no rúmen. Uma forma de controlarmos adequadamente a nutrição protéica dos animais em lactação, seria através da análise periódica da taxa de uréia no sangue e ou no leite, sendo ambos altamente correlacionadas (HOF et al. 1997).

Em pequenos rebanhos todos os animais devem ser testados, no entanto em grandes rebanhos uma amostragem ao acaso de 10 a 15% dos animais de cada grupo seriam suficientes desde que sejam pelo menos 8 animais, pois amostras menores não têm sentido. Os valores normais de uréia no leite (MUN) estariam entre 12 à 20 mg/dl, concentrações acima deste limite podem representar altos níveis de proteína, baixa quantidade de carboidratos



fermentáveis ou assincronia entre proteína e energia, portanto, significa que existe uma ineficiência na suplementação protéica dentro do rebanho. Altos valores para uréia no leite sugerem que está sendo suplementada mais proteína que a necessária, ou que a ingestão de matéria seca não é tão uniforme como deveria ser nesse grupo de animais (TORRENT, 2000). Se as forragens contêm altos níveis de proteína degradável, valores “altos” de MUN podem representar valores “normais”, segundo TORRENT (2000).

## 5.6 – URÉIA PARA VACAS EM LACTAÇÃO

Com a finalidade de melhorar a utilização da uréia na alimentação dos animais, na década de 70, foi desenvolvido por pesquisadores de “Kansas State University” (EUA), um produto extrusado à base de amido do grão de milho e uréia, com equivalente protéico de 45%, denominado “starea” (BARTLEY e DEYOE, 1975). O mesmo produto obtido pela extrusão de uma fonte de amido com a uréia e enriquecido com enxofre foi desenvolvido na década de 80 na Universidade Federal de Lavras, então Escola Superior de Agricultura de Lavras, e foi batizado com o nome de amiréia (TEIXEIRA et al., 1991).

TEIXEIRA et al. (1991) avaliaram o desempenho de vacas leiteiras em lactação, alimentadas com dietas contendo diferentes fontes protéicas: farelo de algodão, farelo de soja, amiréia e concluíram que a ingestão de matéria seca e proteína, produção de leite corrigida ou não para 4% de gordura, e o teor de gordura no leite, não diferiram entre os tratamentos, sugerindo a possibilidade da utilização de amiréia na dieta de vacas leiteiras, sem problemas de desempenho e aceitabilidade das dietas.

Como comentado anteriormente, o aumento da concentração da uréia no organismo animal, prejudica o desempenho reprodutivo e em alguns lugares, este excesso causa preocupação ambiental (BUTLER et al., 1996 e LARSON et al., 1997). O excesso de Nitrogênio (N) nos alimentos aumenta sistematicamente o N-uréico, sem um aumento na proteína do leite. Os valores de uréia e proteína verdadeira no leite podem ser usados para avaliar o aspecto nutricional das vacas em lactação (CIANA e CAPUTO, 1996). Quando o N uréico no leite, no inglês, “*milk urea N (MUN)*”, alcançam valores acima de 20 mg/dl, problemas patológicos podem ocorrer (BUTLER et al., 1996 e LARSON et al., 1997).

BRODERICK e CLAYTON (1997) observaram que o coeficiente de correlação ( $r^2 = 0,918$ ) entre o nitrogênio uréico no plasma, “*blood plasma urea N*” (BUN) e o MUN é alta, podendo o MUN expressar a concentração de N no sangue e no plasma sangüíneo desproteínizado. Os valores de BUN e MUN são influenciados pela hora da refeição (GUSTAFSSON e PALMQUIST, 1993). É observado menor variação quando as vacas são mantidas confinadas (HARRIS JR., 1997) Para as análises do BUN as amostras de sangue devem ser colhidas 2 a 4 horas após à refeição da vaca. Para ter valores comparáveis, a amostragem de todas as vacas deve ser feita ao mesmo tempo após à alimentação. Os valores de MUN representam em média 85% dos valores de BUN, variando de 83 a 98%. Dividindo os valor de MUN por 0,85 obtém-se uma estimativa de BUN (HARRIS JR., 1997).

Os valores de MUN podem ser obtidos através das amostras que vão para os laboratórios de controle leiteiro. É necessário que as amostras sejam devidamente acondicionadas para que os níveis de uréia no leite não sejam reduzidos pela atividade microbiana. Eles podem ser diminuídos em 50% se as amostras de leite ficarem em temperatura ambiente por 24 horas (HARRIS JR., 1997). A adição de um inibidor da fermentação ou a refrigeração logo após a colheita é necessário para obter-se resultados precisos a partir das amostras de leite. Assim, a concentração de MUN pode servir como um guia para a identificação de dietas que possuam excesso ou deficiência de proteína. Desta forma, CARROL et al. (1988) observaram uma diminuição na taxa de concepção em vacas leiteiras que tinham uma excessiva concentração de uréia no muco vaginal, presumivelmente o BUN e o MUN refletiram esta concentração de uréia no muco vaginal.

Peyton e Conrad (1978) citado por LÓPEZ (1984) compararam um concentrado formado por cascas de soja com uréia com outro contendo uréia e minerais ou farelo de soja

complementando uma ração de silagem de milho e feno de alfafa numa ração total com 17% de proteína bruta. Ambos os concentrados continham 2,75% de uréia. Os animais que receberam o primeiro e o terceiro concentrado produziram a mesma quantidade de leite por dia (28,7 e 27,9 kg), tendo igual consumo de matéria seca digestível.

Holter et al. (1968) citado por LÓPEZ (1984) incorporaram a uréia até o nível de 2,5% em misturas de concentrados sem ter apresentado efeitos prejudiciais significativos no consumo de alimento, digestibilidade e produção de leite (Tabela 8). Estes concluíram que a palatabilidade dos concentrados com uréia consumidos em grandes quantidades (dieta total = 15 a 20 kg), podem ser melhorados pela inclusão de nutrientes ricos em energia, havendo a necessidade de cuidados no uso de concentrados contendo uréia.

TABELA 8 – Proporção e composição do leite de vacas leiteiras alimentadas com misturas de concentrados contendo uréia.

Item	Uréia no concentrado ( %)			
	0	1,25	2,0	2,5
Suplementos de Nitrogênio				
Farelo de soja	13,5	5,25	0,5	0,0
Uréia	0,0	1,25	2,0	2,50
Proteína Bruta no concentrado (%)	21,2	20,2	25,9	27,2
Produção de leite (kg/dia)	24,2	28,5	25,9	27,2
Produção de gordura (kg/dia)	0,69	0,85	0,74	0,93
Gordura do leite (%)	2,9	3,0	2,9	3,5

Holter et al. (1968) em LÓPEZ (1984).

SANTOS e HUBER, (1996) resumiram 19 comparações de nove experimentos onde a uréia foi adicionada de 0,4 à 1,8% da matéria seca, substituindo total ou parcialmente o farelo de soja, farinha de peixe e outros subprodutos. A ingestão de matéria seca não foi alterada com a suplementação de uréia na dieta em 14 comparações, aumentou em duas e diminuiu em três. A produção de leite não foi afetada pela utilização da uréia em 17 comparações, mas foi afetada em duas. A percentagem de proteína no leite não foi afetada pela uréia em 14 comparações e aumentou em cinco, o que pode ser explicado pelo aumento na síntese de proteína microbiana ao se fornecer uréia na dieta.

Em um outro experimento, SANTOS et al. (1995), ao alimentar 36 vacas multíparas e 18 primíparas, com 90 dias de lactação, em média, divididos em 6 tratamentos: 8% de farelo de soja; 6,0% de farinha de peixe; 8,7% de farelo de soja (expeller); 3% de farinha de peixe + 0,6% de uréia; 3% de farinha de peixe + 4,4% farelo de soja (expeller) e 1,0% de farinha de peixe + 1,0% de uréia, verificaram que em vacas multíparas a fonte de proteína não afetou a ingestão de matéria seca, produção de leite e produção leite corrigida para gordura. Para vacas primíparas, 1% de uréia na dieta, afetou negativamente a produção de leite, porém aumentou a percentagem de gordura no leite. As dietas continham ainda feno de alfafa e 35 a 42% de sorgo floculados a vapor (Tabela 9).

TABELA 9. Efeito da fonte de proteína da dieta na ingestão de matéria seca, produção de leite, percentagem de gordura e proteína do leite.

Variáveis	Tratamento <sup>1</sup>					
	FS	FP	FSE	FP - U	FP - FSE	U
Ingestão de matéria seca (kg)	25,6 <sup>2</sup> (22,2) <sup>3</sup>	24,7 (2,17)	25,6 (21,8)	25,1 (21,8)	24,6 (21,8)	24,0 (21,3)
Produção de leite (kg/dia)	35,9 (30,4a)	34,5 (29,6ab)	34,6 (30,7a)	35,1 (30,0ab)	35,0 (29,5ab)	35,1 (28,1b)
% de gordura no leite	3,06 (2,97b)	3,09 (3,20ab)	3,00 (2,75c)	2,84 (2,93bc)	2,99 (3,06ab)	3,13 (3,44a)
% de proteína no leite	3,09 (3,13)	3,13 (3,17)	3,11 (2,97)	3,14 (2,93)	3,13 (3,0)	3,13 (3,17)

<sup>1</sup> FS: 8% de farelo de soja; FP: 6% de farinha de peixe; FSE: 8,7% de farelo de soja (expeller); FP-U: 3% de farinha de peixe + 0,6% de uréia; FP-FSE: 3% de farinha de peixe + 4,4% farelo de soja (expeller); U: 1,0% de farinha de peixe + 1,0% de uréia;

<sup>2</sup> Vacas multíparas; <sup>3</sup> vacas primíparas;

a,b,c (p<0,05);

Fonte: SANTOS et al. (1995).

Quando a uréia é adicionada a silagem (30% de matéria seca), grande quantidade da uréia será hidrolisada a amônia durante a fermentação, observando aumentos nos teores de amônia da silagem. Esta hidrólise permite o aparecimento de um agente tamponante durante a fermentação e as silagens com uréia contêm níveis mais altos de ácidos orgânicos. Owens et al. (1970) citado por LÓPEZ (1984) verificaram além de um aumento de proteína solúvel nas silagens tratadas, um aumento de proteína insolúvel, talvez devido a um efeito protetor sobre a proteína ou porque a uréia promove um aumento de síntese de proteína bacteriana. Desta forma, ocorre um aumento do tempo de fermentação devido à ação tamponante da amônia, havendo uma preferência da amônia por muitas bactérias como fonte de nitrogênio e um aumento de energia em virtude da maior produção de ácidos graxos voláteis. A Tabela 10 mostra o efeito da adição de uréia durante a ensilagem sobre o teor de proteína, ureia e amônia da silagem.

TABELA 10 – Silagem de milho tratada com uréia para vacas leiteiras.

Parâmetros	Nível de Ureia (%)		
	0	0,5	0,75
Características da Silagem			
Matéria seca (%)	38,0	36,0	37,8
Proteína bruta na MS (%)	7,7	12,4	14,5
pH	3,8	4,5	4,8
Ureia-N, % na matéria verde	0,02	0,05	0,13
NH <sub>3</sub> -N, (% na MV)	0,02	0,18	0,23
Proteína Bruta do Concentrado	18,4	12,7	10,3
Produção de Leite Corrigido a 4% (kg/dia)	19,4	18,7	20,1

Owens et al. (1970) citados por LÓPEZ (1984).

## 6. INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

Vários fatores merecem ser mencionados na decisão do uso e do nível de uréia nas dietas das vacas leiteiras:

1º) nível de produção do rebanho (kg/lactação):

- inferior a 5.450;
- 5.451 a 6.800;
- 6.801 a 8.180;
- superior a 8.180.

2º) preço da proteína.

3º) preço recebido por litro de leite.

4º) composição da ração de base, isto é o nível de energia que fornece a ração.

5º) degradabilidade da proteína dos ingredientes. As silagens pré-secadas de gramíneas e leguminosas contêm proteína mais degradável, em geral.

6º) estágio de lactação das vacas. A uréia é melhor utilizada após 100 dias de lactação.

7º) número de distribuição de concentrado por dia. Quanto mais vezes o concentrado é fornecido durante o dia, melhor será a utilização da uréia.

O Conselho de Produção Animal do Quebec adotou um guia para auxiliar o produtor na definição do uso de uréia na alimentação das vacas leiteiras, em função do preço da proteína no mercado. Na Tabela 11, visualiza-se as melhores situações para o uso de uréia em função dos fatores supracitados. Embora, trata-se de um sistema relativamente complexo, é possível interrelacionar o preço do leite, preço do milho em grão, preço do farelo de soja e o nível de produção do rebanho, para a tomada de decisão quanto ao uso ou não da uréia na alimentação de vacas leiteiras.

No início de lactação, sobretudo para as vacas com produção acima de 6.800 kg/lactação, a uréia não se constitui em ingrediente ideal para ser utilizar na mistura com grãos, Ela é melhor aproveitada se incorporada à silagem, na proporção de 5 kg de uréia por tonelada de silagem de milho (28 – 35% de MS). Nesta situação todo suplemento protéico sem uréia, como por exemplo, o farelo de soja ou farinha de peixe, deverá ser distribuído em complemento.

TABELA 11. Níveis de proteínas recomendados para se obter um benefício máximo<sup>1</sup>.

Nível de produção de leite na lactação total (Kg)	Pico de produção diária (kg)	Dias em lactação		
		0 – 100	101 – 200	201 - 305
		(% da ração total – 100% M.S.)		
		Preço da proteína relativamente baixo		
< 5.450	27	14,5 <sup>3</sup>	<b>12,5<sup>2</sup></b>	<b>12,5</b>
5.451 – 6.800	31	16,0 <sup>3</sup>	13,0	<b>12,5</b>
6.801 – 8.180	38	17,5 <sup>3</sup>	14,5 <sup>3</sup>	13,0
> 8.180	41	19,0 <sup>3</sup>	16,0 <sup>3</sup>	14,5 <sup>3</sup>
		Preço da proteína relativamente moderado		
< 5.450	27	13,0	<b>12,5</b>	<b>12,5</b>
5.451 – 6.800	31	14,5 <sup>3</sup>	<b>12,5</b>	<b>12,5</b>
6.801 – 8.180	38	16,3 <sup>3</sup>	13,0	12,5
> 8.180	41	17,5 <sup>3</sup>	14,5 <sup>3</sup>	13,0
		Preço da proteína relativamente elevado		
< 5.450	27	13,0	<b>12,5</b>	<b>12,5</b>
5.451 – 6.800	31	13,0	<b>12,5</b>	<b>12,5</b>
6.801 – 8.180	38	14,5 <sup>3</sup>	<b>12,5</b>	<b>12,5</b>
> 8.180	41	16,0 <sup>3</sup>	13,0	<b>12,5</b>

<sup>1</sup>É um guia aproximado para determinar se o preço da proteína é relativamente baixo, moderado e elevado. Para se obter as informações faça os seguintes cálculos:

Primeiramente faça a diferença entre o preço de 0,45 kg de farelo de soja e 0,45 kg de milho em grão, em seguida subtraia este montante do preço de 0,45 kg de leite.

Se o resultado for 8 centavos de reais ou mais, o preço da proteína é relativamente baixo.

Se o resultado for entre 3 e 8 centavos o preço da proteína é relativamente moderado.

Se o resultado for inferior a 3 centavos o preço da proteína é relativamente elevado.

<sup>2</sup>Os valores destacados em **negrito** significam que o NNP pode ser utilizado para fornecer toda ou quase todas as proteínas suplementares.

<sup>3</sup>São situações onde as fontes de proteínas de baixa degradabilidade podem ser vantajosas. O fato de se fornecer fontes de proteínas de baixa degradabilidade ruminal pode proporcionar diminuição das necessidades sugeridas, assumindo que as fontes de proteínas de baixa degradabilidade têm conteúdo comparável de aminoácidos essenciais.

Exemplos:

**1ª Situação preço da proteína relativamente baixo:**

Quando o produtor estiver recebendo 16 centavos de reais por 0,45 kg de leite, o farelo de soja estiver custando 14 centavos e o milho 9 centavos, os passos são: 1º)  $14 - 9 = 5$ ; 2º)  $16 - 5 = 11$  centavos.

**2ª Situação preço da proteína relativamente moderado:** Quando o produtor estiver recebendo 16 centavos de reais por 0,45 kg de leite, o farelo de soja estiver custando 19 centavos e o milho 9 centavos, os passos são: 1º)  $19 - 9 = 10$ ; 2º)  $16 - 10 = 6$  centavos.

**3ª Situação preço da proteína relativamente elevado:**

Quando o produtor estiver recebendo 16 centavos de reais por 0,45 kg de leite, o farelo de soja estiver custando 25 centavos e o milho 11 centavos: 1º)  $25 - 11 = 14$ ; 2º)  $16 - 14 = 2$ .

FONTE: (BACHAND et al., 1987).

Para os rebanhos de produção de leite inferior a 5.450 kg, tudo indica que o lucro máximo será obtido com a utilização de um concentrado a base de uréia, completado, no início da lactação, com um suplemento protéico sem uréia, como o farelo de soja.

Para os rebanhos com produção entre 5.450 e 6.800 kg, a mesma situação se configura, exceto que é ainda mais importante que se forneça o suplemento protéico sem uréia no início da lactação. O concentrado de base, poderá conter uréia.

Para os rebanhos acima de 6.800 kg, tudo indica que a utilização de concentrado sem uréia levará a uma melhor otimização do investimento em proteína, a qual é sempre

dispendiosa, e nesse nível de produção a quantidade de concentrado fornecida é, geralmente, elevada.

Conforme os conhecimentos atuais e aqueles dependentes das condições de preço, tudo indica que rebanhos com produção de leite superior a 8.180 kg possam se beneficiar de concentrados com degradabilidade controlada.

Independentemente do nível de uréia na dieta de base (por exemplo, silagem de milho), é importante que o suplemento protéico não contenha uréia, pois este suplemento é unicamente destinado às vacas no início de lactação quando a uréia não é bem aproveitada.

Alguns cuidados básicos devem ser tomados quando a uréia está presente na dieta de vacas leiteiras, entre eles poderíamos citar alguns dos mais importantes:

- Os animais devem ser inicialmente adaptados ao consumo da uréia, desta forma a mesma deve ser fornecida em quantidades crescentes na dieta, e se caso os animais permanecerem dois dias sem consumirem uréia em sua dieta, o processo de adaptação deve ser recommençado e em hipótese alguma usar em quantidades superiores as recomendadas;
- A uréia deve ser misturada de forma homogênea aos alimentos, a fim de obter um ingestão regular, e ser fornecida diariamente, sem interrupções;
- Uma vaca de 550 kg de PV pode consumir até 200 g de uréia por dia sem problemas;
- Não fornecer uréia aos animais dissolvida em água para beber, ou nos “sopões”;
- Quando a uréia se constituir a principal fonte protéica, fornecer aos animais uma boa mistura mineral à vontade;
- Quando se usa uréia, é importante administrar o enxofre (S) na proporção de uma parte deste elemento para cada 10 a 15 partes de nitrogênio, para se obter melhores resultados. São indicados como fontes de enxofre, o sulfato de cálcio (17% de S), sulfato de amônio (24% de S), que se constituem em excelentes fontes deste nutriente (PETROBRAS/EMBRAPA – Gado de Leite, 1997);
- Os sintomas de intoxicação pela uréia se caracterizam por agitação, falta de coordenação, salivação intensa, tremores musculares, micção e defecção constantes, respiração ofegante e timpanismo;
- Nos casos de intoxicação, utilizar duas garrafas de vinagre por animal como antídoto, logo aos primeiros sintomas. Colocar o bico da garrafa no canto da boca e deixar o líquido descer, não puxar a língua do animal, porque iria para o pulmão e o asfixiaria;
- No caso da utilização em vacas leiteiras de alta produção fazer acompanhamento da concentração de uréia no leite ou no plasma, evitando problemas reprodutivos.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de uréia reduz, de forma considerável, o custo das dietas utilizadas na alimentação de vacas leiteiras. Os estudos até hoje realizados mostram que dietas com PB ou PDR pouco acima do recomendável pelo NRC – Gado de Leite, ou de fontes de NNP, não afeta o desempenho reprodutivo em animais de baixa e média produção de leite. Em rebanhos de leite que utilizam forragens tropicais suplementados com uréia ou uma fonte de proteína verdadeira observa-se uma melhora no desempenho reprodutivo. Conclui-se que a uréia pode ser bem aproveitada pela vaca, como são as fontes de proteínas verdadeiras. Entretanto, ambas necessitam de um correto balanceamento com fontes de carboidratos fermentecíveis, aliado a sincronização de degradação no rúmen entre as fontes de proteínas e de carboidratos, otimizando desta forma, a produção microbiana e evitando a formação de excesso de amônia.

Quanto maior for a degradabilidade da proteína da ração maior será a produção de amônia e possivelmente, maiores serão as perdas urinárias de compostos nitrogenados na forma de uréia.

Valores altos de MUN e BUN no leite e no sangue, respectivamente, indicam aumento das perdas de proteínas. Além disso, vacas com concentrações elevadas de MUN e BUN sofrem maior estresse devido à conversão de amônia em uréia no fígado e à subsequente excreção urinária.

Altos níveis de MUN e BUN também têm impacto ambiental, porque é um indicativo que mais nitrogênio está sendo excretado no esterco e na urina, contribuindo para o aumento de problemas na qualidade da água e do cheiro exalado pelos dejetos.

Os estudos com vacas de leite de alta produção (>8.500 kg/lactação) indicam que a elevação nos níveis circulantes de BUN acima de 19 a 20 mg/dl comprometem a fertilidade e as taxas de concepção.

Maiores estudos são necessários para melhor elucidar o exato mecanismo pelo qual altas concentrações de BUN afeta a fertilidade em vacas de alta produção.

## 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL-WAHID, F.T. TRISCHLER, J.P., DUBY, R.T. Effects of dietary crude protein on fertility and urea level in reproductive fluids of sheep. *J. Anim. Sci.*, 63, (suplement 1): 211, 1986.
- ASELTINE, M.S. Interrelationship exists between nutrition, dairy low fertility. *Feedstuffs*, 22: 12, 1989.
- BARTLEY, E. E.; DEYOE, C.W. 1975. Starea as a protein replace for ruminants. *Feedstuffs*, 47(30):42-44.
- BARRETO, A.G. *Uso da uréia como suplemento proteico na dieta de doadoras e receptoras de embriões em bovinos*. Brasília, DF: UNB, 2000. 68 p. Dissertação (Mestrado em zootecnia) – Universidade Nacional de Brasília, 200.
- BACHAND, C., BENOIT, M., BRISSON, J. et al. *Bovins Laitiers*. Gouvernement du Québec. Ministère de l'Agriculture, des pêcheries et de l'Alimentation. Conseil des Productions Animales du Québec. Agdex 410, 1987, 215p.
- BLANCHARD, T., FERGUNSON, J., LOVE, L. et al. Effect of dietary crude-protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 51(6): 905-908, 1990.
- BLAUWIEKEL, R., KINCAID, R.L., REEVES, J.J. Effects of high crude protein on pituitary and ovarian function in holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 69: 439-446, 1986.
- BROCK, F.M., FORSBERG, C.W., BUCHANAN-SMITH, J.G. Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44: 561-569, 1982.
- BRODERICK, G.A., CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.*, 80(11): 2964-2971, 1997.
- BRODERICK, G.A., WALLACE, R.J., ØRSKOV, E.R. Control of rate and extent of protein degradation. In: TSUDA, T., SASAKI, Y., KAWASHIMA, R. (Ed.) *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. New York, Academic Press, p.542-592, 1991.
- BRODY, T. *Nutritional biochemistry*. Academic Press, USA., 1994. 658p.
- BUTLER, W.R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology, *J. Dairy Sci.*, 80, (suplement 1): 138, 1997.
- BUTLER, W.R., CALAMAN, J.J., BEAM, S.W. et al. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 74: 858-865, 1996.
- CARROL, D.J, BARTON, B.A., ANDERSON, G.W. et al. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 71: 3470-3481, 1988.
- CIANA, L.D., CAPUTO, G. Robust, reliable biosensor for continuous monitoring of urea during dialysis. *Clin. Chem.*, 42: 1079-1085, 1996.
- COELHO da SILVA, J.F., LEÃO, M. *Fundamentos da Nutrição dos Ruminantes*. Piracicaba, Ed. Livroceres, 1979, 384p.
- COELHO da SILVA, J.F. Proteína na nutrição de ruminantes. *Informe Agropecuário*, 16(175): 9-15, 1992.
- COTTA, M.A., HESPELL, R.B. Protein and amino acid metabolism of rumen bacteria. In: MILLIGAN, L.P., GROVUM, W.L., DOBSON, A. (Ed.) *Control of digestion and metabolism in ruminants*. Prentice-hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA, p.122-136, 1986.
- DUBY, R.T., TRISCHLER, J.P., PRANGE, R.W. et al. Effect of dietary crude protein on urea in fluids of the reproductive tract of ewes and dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 59, (suplement 1): 339, 1984.
- ELROD, C.C., BUTLER, W.R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.*, 71: 694-701, 1993a.
- ELROD, C.C., BUTLER, W.R. Alteration of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim. Sci.*, 71: 702-706, 1993b.



- ERFLE, J.D., SAUER, F.D., MAHADEVAN, S. Effect of ammonia concentration on activity of enzymes of ammonia assimilation and on synthesis of amino acids by mixed rumen bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci.*, 60: 1064-1072, 1977.
- FERGUNSON, J.D., CHALUPA, R. Symposium: interactions of nutrition and reproduction. *J. Dairy Sci.*, 73(3): 746-766, 1989.
- FERGUNSON, J.D., GALLIGAN, D.T., BLANCHARD, T. et al. Serum urea nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. *J. Dairy Sci.*, 76: 3742-3746, 1993.
- FERNANDEZ, J.M., CROOM, W.J., JOHNSON, A.D. et al. Subclinical ammonia toxicity in steers: effects on blood metabolite and regulatory hormone concentrations. *J. Anim. Sci.*, 66: 3259-3266, 1988.
- FOLMAN, Y., NEUMARK, H., KAIM, M., et al. Performance, rumen and metabolites in high-yielding cows fed varying protein percents and protected soybean. *J. Dairy Sci.*, 64: 759-768, 1981.
- FUCK, E.J., MORAES, G.V., SANTOS, G.T. Fatores nutricionais na reprodução das vacas leiteiras. I. Energia e proteína. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 24(3): 147-161, 2000.
- GARCIA-BAJALIL, C.M., STAPLES, C.R., RISCO, A.A. et al. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive responses. *J. Dairy Sci.*, 8: 1374-1384, 1998a.
- GARCIA-BAJALIL, C.M., STAPLES, C.R., RISCO, A.A. et al., Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: reproductive responses. *J. Dairy Sci.*, 81: 1385-1395, 1998b.
- GARCIA-BAJALIL, C.M., STAPLES, C.R., THACTCHER, W.W. et al. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 77: 2573-2548, 1994.
- GRUMMER, R.R. Impact of change in organic nutrient metabolism on feeding transition dairy cow. *J. Anim. Sci.*, 73: 2820-2833, 1995.
- GUSTAFSSON, A. H., PALMIQUIST, D.L. Diurnal variation of rumen ammonia and serum and milk urea in dairy cows at high and low yield. *J. Dairy Sci.*, 76: 475-483, 1993.
- HARRIS JR., B. Usando os valores de nitrogênio uréico no leite (MUN) e nitrogênio uréico sanguíneo (BUN). *InfoMilk*, 1(1): 1-4, 1997.
- HOF, G.; VERDOORN, M.D.; LENAERS, P.J. et al., Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80: 3333-3340, 1997.
- HUNTINGTON, G.B., ARCHIBEQUE, S.L. *Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants*. Proceedings of the American Society of Animal Science. 1999.
- JORDAN, E.R., SWANSON, L.V., Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein and albumin in the high producing dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 62: 58, 1979.
- JORDAN, E.R.; CHAPMAN, D.W.; HOLTAN, D.W. et al., Relationship of dietary crude protein to composition of secretions and blood in high producing postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 66: 1854-1862, 1983.
- LARSON S.F., BUTLER, W.R., CURRIE, W.B. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80: 1288-1295, 1997.
- LÓPEZ, J. Ureia em rações para produção de leite. In: *Anais do 2º Simpósio sobre Nutrição de bovinos: Ureia para Ruminantes*. FEALQ. Ed. PEIXOTO, A.M., MOURA, J.C., FARIA, V.P. p. 200-225, 1984.
- LUCY, M.C., STAPLES, C.R., MICHEL, F.M. et al., Energy in balance and size and number of ovarian follicles detected, by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 74: 473, 1991.
- MAYNARD, L.A., LOOSLI, J.K., HINTZ, H.F., WARNER, R.G. *Animal Nutrition*. Trad. FIGUEIREDO F.º. A.B.N. 3º ed. Rio de Janeiro. Freitas Bastos, 1984. p. 736.
- McCLURE, T.J. *Infertilidade nutricional y metabolica de la vaca*. 1ª ed. Acribia, 1994, 141p.
- MINSON, D.J. *Forage in ruminant nutrition*. Academic Press, USA. 483p. 1990

- NOCECK, J.E., RUSSEL, J.B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.*, 71: 2070-2107, 1988.
- NOLAN, J.V. *Nitrogen kinetics* In: Forbes, F.M., France, F. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CAB International, 1993. 1<sup>a</sup> ed, p. 123-145.
- NRC – National Research Council. *Ruminant nitrogen usage*. Washington, DC. 1985, 138p.
- NRC-NATURAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient requirements of dairy cattle*. Sixth Revised Edition, 157 p, 1989
- NUNGENT, J.H.A., MANGAN, J.L. Characteristics of the rumen proteolysis of fraction I (18S) leaf protein from lucerne (*Medicago sativa* L.). *Br. J. Nutr.*, 46: 39-58, 1981.
- OWENS, F.N., ZINN, R. Protein metabolism of ruminant animals. In: CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Prentice Hall, New Jersey – USA, p. 227-249, 1988.
- PETROBRAS/EMBRAPA – Gado de Leite. *Uréia pecuária*. Informações técnicas. Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite – Juiz de Fora, MG. 1997, 15p.
- RUSSEL, J.B., O'CONNOR, J.D., FOX, D.G., SNIFFEN, C.J., VAN SOEST, P.J. A Net Carbohydrate and Protein System for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.*, 70: 3551-3561, 1992.
- RUSSEL, J.B., ONODERA, R., HINO, T. Ruminal protein fermentation: News perspectives on previous contradictions. . In: TSUDA, T., SASAKI, Y., KAWASHIMA, R. (Ed.) *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. New York, Academic Press, p. 681-697, 1991.
- SANTOS, F.A.P., HUBER, J.T., THEURER, C.B. ET AL. Response of high producing dairy cows to different protein sources when fed steam-flaked sorghum diets. *J. Dairy Sci.*, 78(1): 294, 1995.
- SANTOS, F.A.P., HUBER, J.T. Quality of bypass proteins fed to high-producing cows is important. *Feedstuffs*, 12:12-15, 1995.
- SANTOS, G.T., PRADO, I.N., BRANCO, A.F. Aspectos do manejo do gado leiteiro especializado. Universidade Estadual de Maringá. 1993:. 23 p. (Apontamentos, 22).
- SANTOS, G.T., PETIT, H.V., PRADO, I.N. Alguns aspectos do novo sistema de arraçamento protéico da vaca leiteira. *Rev. Unimar*, 16, (suplemento 1): 89-110, 1994.
- SANTOS, J.E., AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, 26 (1): 19-89. 1998.
- SCHILO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.*, 70: 1271-1282, 1992.
- SMITH, R.H. Nitrogen metabolism in the rumen and composition and nutritive value of nitrogen compounds entering the duodenum. In: McDONALD, I.W. E WARNER, A.C.I. Ed. *Digestion and metabolism in the ruminant*, pg. 399-415. University of New England, Australia, 1975.
- SONDERMAN, J.P., LARSON, L.L. Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin-releasing hormone on circulating progesterone concentrations and performance of holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 72: 2179-2183, 1989.
- SPICER, L.J., ECHTERKAMP, S.E., The ovarian insulin and insulin-like growth factor with an emphasis on domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology*, v.12, p.223-245, 1995.
- STRANG, B.D., BERTICS, S.J., GRUMMER, R.R. Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.*, 81(3): 729-739, 1998.
- TAMMINGA, S. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. *J. Anim. Sci.*, 49: 1615-1630, 1979.

- TEIXEIRA, J. C.; OLIVEIRA, A. I. G. de; BARCELOS, A. F. Performance de vacas leiteiras em lactação alimentadas com diferentes fontes de proteína. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 28, João Pessoa, 1991. *Anais...* Viçosa: SBZ, p.290, 1991.
- TORRENT, J. Nitrogênio uréico no leite e qualidade do leite. In: Simpósio Internacional sobre qualidade do leite. *Anais...* II Simpósio sobre qualidade do leite, Curitiba, 05 a 08 de novembro de 2000. Curitiba, 2000, p. 27-29.
- VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta em bovinos. In: PEREIRA, J.C. (Ed.) *Simpósio Internacional sobre Exigências Nutricionais de Ruminantes*. Viçosa, MG, 1995.
- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press, Ithaca. 2<sup>a</sup>. ed. 1994. 476p.
- WISEK, W.J. Amonia: Its effects on biological systems. Metabolic hormones, and reproduction. *J. Dairy Sci.*, 67(3): 481-498, 1984.
- WALLACE, R.J., COTTA, M.A. Metabolism of nitrogen-containing compounds. In: HOBSON, P.N. (Ed.) *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Applied Science, England, p.217-250, 1988.