

THALITA LÁZARO LEAL

**EFEITO DO PERÍODO DE COLETAS DE URINA SOBRE A EXCREÇÃO DE
CREATININA E A PRODUÇÃO MICROBIANA EM BOVINOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do Título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

L435e
2005

Leal, Thalita Lázaro, 1979-

Efeito do período de coletas de urina sobre a excreção
de creatinina e a produção microbiana em bovinos
/ Thalita Lázaro Leal. – Viçosa : UFV, 2005.
xii, 50f. : il. ; 29cm.

Orientador: Rilene Ferreira Diniz Valadades
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Inclui bibliografia

1. Ruminante - Nutrição. 2. Uréia. 3. Alantoína.
4. Ácido úrico. 5. Creatinina. I. Universidade Federal de
Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 636.2085

“Os que confiam no Senhor são como monte de Sião, que não se abala, mas permanece firme para sempre”.

(Salmo, 125)

“Tudo posso Naquele que fortalece”.

(Filipenses, 4:13)

À minha mãe, Silvia, que me ensinou a força do pensamento.
Ao meu pai, Sérgio, que me ensinou o poder da ação.
Às minhas queridas irmãs, Poli e Mimi, por sempre estarem ao meu lado.
E com isso, vou em busca dos meus sonhos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me abençoar e fortalecer em todos os momentos da minha vida, principalmente nos mais difíceis.

Aos meus pais, Sérgio Leal e Silvia Rodriguês Lázaro Leal, minhas irmãs Polianna e Camila, pelo apoio, compreensão, amor e carinho, sem vocês nada disso estaria fazendo sentido, meus alicerces.

Aos meus avós, Silvio, Isaura, João e Loudes (*in memoriam*), por serem a base de uma família maravilhosa da qual me orgulho imensamente.

Aos meus tios e primos pela torcida e apoio em todos os momentos da minha jornada.

À Universidade Federal do Paraná – *Campus Palotina*, pela minha formação.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Medicina Veterinária e ao Departamento de Zootecnia, por tornarem possível a realização deste curso.

À mais que professora, minha amiga e orientadora de mestrado, Rilene Ferreira Diniz Valadares, pela respeitável e estimável amizade e orientação, pelos ensinamentos, pela credibilidade, atenção e lições de vida.

Ao prof. Sebastião de Campos Valadares Filho, pelo apoio, conselhos, orientação e ensinamentos na condução e finalização desta pesquisa.

Aos professores Edenio, Mário Paulino, Maria Ignês, José Maurício e demais professores do Departamento de Zootecnia e Medicina Veterinária pelo conhecimento transferido.

Aos funcionários do Departamento de Veterinária, principalmente Rose e Beth (secretaria de Pós-graduação) pelo auxílio nas tarefas diárias sempre com bom humor e carisma.

Aos funcionários do Departamento de Zootecniada UFV: Joécio, Zé Geraldo, Pum e Marcelo do Laboratório Animal; Gaguinho, Zé Antônio, Almiro, Zezé e demais funcionários da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite; Monteiro, Fernando, Raimundo, Vera e Valdir do Laboratório de Nutrição Animal e Celeste, Rosana e Fernanda pelo auxílio para a realização deste trabalho e amizade.

Aos estagiários e bolsistas de iniciação científica e voluntários Marcos, Marlos, Mozart, Léo, Alexandre, Mosquito, Terrão, Marcio, Celson pelo comprometimento com o trabalho e auxílio na condução dos experimentos, toda minha gratidão.

Aos amigos da pós-graduação, Mário, Fernanda, Douglas, Polyana, Maycon, Juliana, André, Amélia, Márcia, Renius, Fernanda, Silas, Robson, Mônica, Rafael, Karla, Pedro, Patrícia e demais colegas pela amizade, pelos conselhos e pelo auxílio nos trabalhos de mestrado e da vida.

À minha grande amiga e parceira, Analivia, pela prazerosa companhia em todas as madrugadas frias de coletas ouvindo um “sertanejão”, em especial, por ter sido uma grande amiga em todos os momentos.

A mais que amiga, minha irmã Giorgia, pelos maravilhosos anos de convivência que o destino permitiu que compartilhássemos.

À minha querida amiga e futura sócia, Carol, por ter sido, simplesmente, um presente de Deus na minha vida.

A todos meus amigos de Viçosa, Hugo, Soninha, Lind’say, Lohaine, Vinícius, Juliana, Maíra, Amanda, Clara, Roberta, Tatiana, Daniel, Ninico,

Gustavo, Alemão, Diogo, Léo e outros. Para todos vocês que participaram da minha vida: Viçosa não teria sido tão boa quanto foi se vocês não estivessem ao meu lado.

Ao Tiago, por todos os momentos dos quais nunca me esquecerei.

Aos meus saudosos amigos de graduação, Fábio, Cibela, Dani, Juca, Lebrão, Carol, Bob, Carlão, Juliana, Giovani, Pompom, Gaúcho, Chico (*in memoriam*) os quais mesmo longe sempre estavam me apoiando.

Aos meus professores, Júlio, Zé Antônio, Marivone, Ricardo, Olicies, Jovanir em especial ao prof. Gilberto pelo apoio, incentivo e torcida.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

BIOGRAFIA

THALITA LÁZARO LEAL, filha de Sérgio Leal e Silvia Rodriguês Lázaro Leal nasceu em Lucélia, São Paulo, em 25 de agosto de 1979.

Em fevereiro de 2003, graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná – *Campus* Palotina.

Em março de 2003, iniciou o Curso de mestrado em Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de tese em 21 de fevereiro de 2005.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO.....	1
LITERATURA CITADA	8
Variações Diárias nas Excreções de Creatinina e Derivados de Purinas	
Em Novilhos.....	12
Resumo	12
Abstract	13
Introdução.....	14
Material e Métodos	16
Resultados e Discussão	20
Conclusões	28
Literatura Citada	29
Variações Diárias nas Excreções de Creatinina e Derivados de Purinas	
Em Novilhas.....	32
Resumo	32
Abstract	33
Introdução.....	34
Material e Métodos	35
Resultados e Discussão	39
Conclusões	45
Literatura Citada	45
RESUMO E CONCLUSÕES	49

RESUMO

LEAL, Thalita Lázaro, M.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2005.

Efeito do período de coletas de urina sobre a excreção de creatinina e a produção microbiana em bovinos. Orientadora: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Conselheiros: Sebastião de Campos Valadares Filho e Maria Ignez Leão.

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de dois experimentos. No primeiro foram utilizados quatro animais, machos castrados, de grau de sangue predominantemente Holandês com peso inicial médio de 445 kg, objetivando-se estimar as variações nas excreções diárias de creatinina, uréia e de derivados de purinas na urina, utilizando coletas durante seis dias consecutivos; e avaliar as concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) em novilhos submetidos a dietas que continham dois níveis de concentrado e duas fontes de proteína. Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 4X4, sendo os tratamentos definidos em esquema fatorial 2X2, sendo dois níveis de uréia (0 e 100%) em substituição ao farelo de soja e dois níveis de oferta de concentrado (0,75% e 1,25% do PV), e a comparação entre dias de avaliação foi conduzida em esquema de parcelas subdivididas. O volumoso, constituído de silagem de capim elefante (80%) e silagem de sorgo (20%), foi fornecido à vontade. As coletas de urina foram feitas durante seis dias consecutivos, utilizando-se funis coletores adaptados aos animais. A síntese de compostos nitrogenados microbianos foi maior ($P < 0,05$) para a maior oferta de concentrado e menor ($P < 0,05$), quando a proteína do farelo de soja foi substituída pela uréia. Não houve interação ($P > 0,05$) entre níveis de concentrado e de uréia para a concentração de NUP e a excreção de N-uréico na urina, nem efeito ($P > 0,05$) de níveis de uréia. As excreções urinárias de uréia, alantoína, ácido úrico e derivados de purinas totais não foram afetadas ($P > 0,05$) pelos dias de coleta de urina. Da mesma forma, a quantidade estimada de proteína microbiana não diferiu ($P > 0,05$) entre os dias de coleta de urina. Não houve diferença ($P > 0,05$) na excreção de creatinina entre os dias de

coleta de urina, apresentando o valor médio de 25,47 mg/kgPV, 117,92 mg/kg^{0,75} ou 1,04 mmol/kg^{0,75}. No segundo experimento, objetivou-se avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina e de uréia na urina, utilizando coletas durante seis dias consecutivos em novilhas de origem leiteira; avaliou-se também o efeito da duração do período de coleta sobre a estimativa da produção microbiana obtida a partir dos derivados de purinas na urina. Utilizaram-se onze novilhas de grau de sangue predominantemente Holandês, com peso inicial médio de 280 kg, considerando-se o grupo de animais como uma amostra aleatória simples da população. Para comparação entre dias de coletas, empregou-se análise de variância como ferramenta para isolamento do erro puro, adotando-se modelo constituído pelo efeito aleatório de animal e pelo efeito fixo de dia de avaliação. O volumoso foi constituído de silagem de milho fornecida à vontade. Diariamente foi fornecido 2,0 kg de concentrado por animal. O período experimental teve duração de seis dias, pois os animais já estavam adaptados à dieta. As coletas de urina foram realizadas utilizando-se sondas de Folley nº 22 ou 26, sendo determinado o volume urinário diário. As excreções urinárias de creatinina, uréia, alantoína, ácido úrico e derivados de purinas totais também não foram afetadas ($P>0,05$) pelos dias de coleta de urina. Da mesma forma a quantidade estimada de proteína microbiana não diferiu ($P>0,05$) entre os dias de coleta de urina. O valor médio para a excreção de creatinina foi de 30,5 mg/kgPV, 124,84 mg/kg^{0,75} ou 1,1 mmol/kg^{0,75}. Através dos resultados obtidos nos dois experimentos, pode-se concluir que a ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem uma grande aplicação prática, pois além de reduzir o trabalho com tempos longos de coletas, permite a redução nos custos da pesquisa, recomendando-se coletas de urina com duração de 24 horas.

ABSTRACT

LEAL, Thalita Lázaro, M.S., Universidade Federal de Viçosa, march of 2005.
Effect of urine sampling period on creatinine excretions and microbial production in bovine. Adviser: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Committee members: Sebastião de Campos Valadares Filho and Maria Ignez Leão.

The present work was developed based on two experiments. In the first one were used four castrated Holstein steers, with initial average live weight of 445 kg, aiming to evaluate variations on the daily urinary excretion of creatinine, urea and purine derivatives, sampling during six consecutive days; and to evaluate the plasma N-urea concentration (NUP) for steers receiving diets with two levels of concentrate and two protein sources. The animals was distributed in a 4x4 latin square, being the treatments defined by factorial outline 2x2, two urea levels (0 and 100%) replacing soybean meal and two levels of concentrate (0.75% and 1.25% of live weight - LW), the comparison between the evaluation days was lead using a split-plot design. The roughage, constituted of elephant grass silage (80%) and sorghum silage (20%), was supplied "*at libitum*". The urine sampling were done during six consecutive days, using funnels collectors coupled in animals. The nitrogen microbial compounds synthesis was higher ($P < 0.05$) for the higher use of concentrated and lower ($P < 0.05$), when the protein from soybean meal was replaced by urea. There weren't found interaction ($P > 0.05$) between the concentrate and urea levels for the concentration of NUP and urinary excretion of N-urea, neither effect ($P > 0.05$) of urea levels. The urinary excretions of urea, allantoin, uric acid and total purine derivatives were not affected ($P > 0.05$) by the days of urine sampling. In the same way, the amount of estimated microbial protein were not affected ($P > 0.05$) by the days of urine sampling. The creatinine excretion were not affect by the days of urine sampling,

presenting average values of 25,47 mg/kgLW, 117,92 mg/kg^{0.75} or 1,04 mmol/ kg^{0.75}. The second experiment was aimed to determine variations in the daily urinary excretions of creatinine and nitrogen compounds, sampling during six consecutive days for dairy heifers, the effect of number of sampling days in the estimated microbial production was also evaluated. Eleven dairy Holstein heifers, with initial live weight of 280 kg, were used, being a simple sample of a population. To perform the comparison between the sampling days, the variance analyses method was used as a pure error isolation tool, adopting a model which considers the random effect of animal and the constant effect of the evaluation day. The roughage was composed by corn silage supplied "*at libitum*". Daily 2 kg of concentrate were supplied for each animal. The experimental period had a six day duration because the animals were adapted to the diet. To determine the daily urinary amount, No. 22 or 26 Folley catheters were used. The was not affected ($P>0.05$) by the days of urine sampling. The urinary excretion of creatinine, urea, allantoin, uric acid and the total purine derivatives excretions were not affected ($P>0.05$) by the days of urine sampling. The amount of estimated microbial protein were not affected ($P>0,05$) by the days of urine sampling either. The average value for the creatinine excretion was 30,5 mg/kgLW, 124,84 mg/kg^{0.75} or 1,1 mmol/kg^{0.75}. Through the results of the two experiments, it can be inferred that the effect absence of the number of days on the creatinine excretion has a important practical application, because it reduces the long durations of sampling, as well as the research expenses, recommending urine samplings of 24-hour duration.

INTRODUÇÃO

Através de uma análise geral da situação do setor agropecuário, nota-se que, nos últimos anos, a pecuária bovina tem confirmado seu dinamismo e importância para a economia nacional, devido à expressiva participação no Produto Interno Bruto (PIB) e contribuição para o saldo positivo da balança comercial brasileira. Outro fator de grande relevância é o grande impacto social exercido pela mesma na geração de empregos e segurança alimentar.

Em virtude das novas exigências mercadológicas impostas pelo processo de globalização da economia, o setor tem apresentado mudanças significativas no processo produtivo com a finalidade de conferir maior competitividade produtiva e econômica à atividade pecuária. Entretanto, embora a pecuária nacional represente uma atividade próspera, os índices de produtividade de carne e leite ainda são muito baixos. Esta situação pode ser atribuída, principalmente, à predominância de sistemas de baixa tecnologia de criação de animais, que compromete os ganhos na produção. Dessa forma, o processo de difusão das novas tecnologias geradas, assume caráter de extrema importância, pois contribui para a continuidade desse processo de desenvolvimento.

O manejo nutricional é um dos principais fatores a ser considerado na produção de bovinos. A alimentação é responsável pela maior parcela dos custos da atividade, o que leva produtores e pesquisadores a utilizarem alimentos de mais baixo custo e que proporcionem aos animais desempenhos satisfatórios (Valadares Filho et al., 2004).

Pesquisas relacionadas com a avaliação de alimentos, muitas vezes submetem os animais a procedimentos cirúrgicos, como a implantação de fístulas nas diferentes partes do trato gastrointestinal, o que pode causar desconforto ao animal e impactos sobre as estimativas dos parâmetros digestivos. O destaque internacional focalizando o conforto animal tem impulsionado mudanças nos experimentos que envolvem animais, o que resulta em crescente procura por métodos de coletas não-invasivas. Assim, tem aumentado o interesse pela

substituição de técnicas traumáticas por procedimentos alternativos mais práticos, como os que envolvem coletas de amostras de sangue e/ou de urina.

Análises de urina têm grande aplicação em experimentos de nutrição; entretanto o tempo de coleta necessário para a obtenção de amostras representativas da condição do animal tem variado bastante entre estudos. Chen & Gomes (1992) afirmaram que para reduzir erros devidos a variações na produção urinária, as coletas de urina deveriam ser feitas durante pelo menos cinco dias. Na literatura consultada registraram-se tempos variando entre nove dias (Siddons et al., 1985); sete dias (Krishna Mohan & Ranjhan, 1982); seis dias (Ørskov & MacLeod, 1982); cinco dias (Cruz Soto et al., 1994; Hennessy et al., 1995) e três dias (Coto et al., 1988), sendo que nesses experimentos utilizaram-se animais em gaiolas de metabolismo.

Poucos experimentos, em que se utilizaram fêmeas com cateteres foram descritos e variaram períodos de coletas de cinco dias (Susmel et al., 1994a), quatro dias (Valadares et al., 1997a) e três dias (Vagnoni et al., 1997). Deve-se ressaltar que o uso de cateteres pode causar desconforto e aumentar o risco de infecções urogenitais, principalmente quando usado por tempo prolongado.

Segundo Fleming et al. (1991) e Valadares et al. (1997a), o período de coleta com duração de 24 h poderia ser representativo da condição excretória do animal. Contudo, há necessidade de mais pesquisas para validar o uso da coleta em 24 horas de duração.

Na tentativa de simplificar a obtenção de dados experimentais e eliminar o desconforto causado por funis ou cateteres utilizados na coleta total, a creatinina excretada na urina tem sido utilizada como um indicador para estimar o volume urinário total. A creatinina é formada no músculo pela remoção de água da creatina-fosfato, originada do metabolismo do tecido muscular (Harper et al., 1982). A molécula de creatina-fosfato é degradada espontaneamente a taxas relativamente constantes formando a creatinina. A creatinina é um produto metabólico do qual o corpo já não necessita, não sendo utilizada para formação de novas moléculas, portanto, excretada em grandes quantidades pelos rins. A produção diária de creatina, por conseguinte, a excreção de creatinina, é

dependente da massa muscular e é proporcional ao peso do animal (Koren, 2000). Assim, uma vez determinada a excreção diária de creatinina em função do peso do animal e considerando a concentração desta constante ao longo do dia, pode-se estimar o volume urinário excretado diariamente a partir da concentração de creatinina em uma amostra de urina coletada de um animal de peso conhecido. A excreção de creatinina é pouco afetada pelo teor de proteína, carboidratos não-fibrosos ou nitrogênio não-protéico da dieta (Susmel et al., 1994b; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997b; Oliveira et al., 2001 e Rennó et al., 2002), dessa forma não são esperadas variações devido à dieta.

Entretanto, devido ao fato dos animais apresentarem proporções diferentes de tecidos em cada estágio de desenvolvimento, é possível que haja variações nas excreções diárias de creatinina (expressa em função do peso vivo do animal), visto que ela é sintetizada no tecido muscular.

O valor médio de 29 mg/Kg PV foi obtido por Valadares et al. (1999), trabalhando com vacas Holandesas puras e valores inferiores de 24 e 23,41 mg/kg PV foram encontrados por Valadares et al. (1997b) e Oliveira et al. (2001) em vacas mestiças Holandês x Zebu. Em novilhos, encontram-se valores variando entre 24,04 mg/kg PV, relatados por Valadares et al. (1997b) e 27,99 mg/kg PV (Chizzotti et al. 2004), que também observaram variações na excreção de creatinina em novilhas com diferentes faixas de peso.

Se a excreção de creatinina puder ser considerada constante, haverá um enorme progresso na estimação da produção de proteína microbiana, tanto para rebanhos leiteiros confinados ou manejados a pasto.

As exigências dietéticas de proteína metabolizável para ruminantes são atendidas mediante a absorção no intestino delgado da proteína microbiana e proteína dietética não-degradada no rúmen, sendo que a proteína microbiana pode suprir, de 50 a 100% da proteína metabolizável exigida para bovinos de corte (NRC, 1996). Sabendo que o objetivo básico dos estudos de alimentação de ruminantes é maximizar a síntese de proteína microbiana, em virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos (Valadares Filho & Valadares, 2001),

torna-se de fundamental importância o estudo de métodos para estimar a produção de proteína microbiana de forma rápida e rotineira.

Existem vários métodos para medir a produção de compostos nitrogenados microbianos, incluindo a utilização de marcadores internos – bases púricas e ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA) – e externos, como ^{15}N e ^{35}S . Em razão de estes métodos necessitarem da utilização de animais fistulados e da avaliação do fluxo da matéria seca no abomaso, existe a tendência destes serem substituídos por técnicas não-invasivas para estimar a produção microbiana.

O uso da excreção de derivados de purinas (DP) como indicador metabólico no rúmen, foi primeiramente proposto por Blaxter e Martin, em 1962 (Fujihara et al., 1987).

Quando se utiliza o método de excreção de DP, assume-se que o fluxo duodenal de ácidos nucléicos é essencialmente de origem microbiana e, após a digestão intestinal dos nucleotídeos de purinas, as bases adenina e guanina são catabolizadas e excretadas proporcionalmente na urina como DP, principalmente alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (Perez et al., 1996). Segundo Chen & Gomes (1992), na urina de bovinos apenas alantoína e ácido úrico estão presentes devido à grande atividade de xantina oxidase no sangue e nos tecidos, que converte xantina e hipoxantina a ácido úrico antes da excreção.

A excreção de DP está diretamente relacionada com a absorção de purinas. Assim, conhecendo-se a relação N purina/N total na massa microbiana, a produção de N microbiano pode ser calculada a partir da quantidade de purinas absorvidas, que seria estimada a partir da excreção urinária de DP (Chen & Gomes, 1992).

Segundo Mayes et al. (1995), alguns parâmetros usados nos modelos não estão completamente definidos, entre esses, a recuperação de purinas absorvidas e a relação N purina/N total (NP/NT) nos microrganismos ruminais. Clark et al. (1992), Chen & Gomes (1992), Valadares Filho (1995), Carvalho et al. (1997), Valadares et al. (1999), Dias et al. (2000), Rennó et al. (2000), Leão (2002) e

Rennó (2003) obtiveram relações NP/NT de 13,7; 11,6; 17,6; 15,3; 13,4; 11,3; 11,7; 24,0 e 19,5%, respectivamente.

A incompleta recuperação das purinas absorvidas tem sido reportada, sendo a saliva e o leite as principais rotas não-renais para excreção de derivados de purinas. A recuperação das purinas absorvidas em novilhos variaram de 0,70 a 0,77 e 0,85 (Beckers e Théwis, 1994, citados por Gonzalez-Ronquillo et al., 2003 e Chen & Gomes, 1992).

A existência de uma fração endógena nos DP excretados foi confirmada em diversos experimentos, utilizando diferentes métodos e mostrou-se variável. Em novilhos ou novilhas, Verbic et al. (1990), Fujihara et al. (1987) e Giesecke et al. (1993), citados por Orellana Boero et al. (2001), encontraram médias de 0,365; 0,455 e 0,489 mmol/kg^{0,75}, respectivamente.

Utilizando 116 observações em 24 bovinos não-castrados, fistulados no rúmen, abomaso e íleo, no total de cinco experimentos, Rennó et al. (2000) observaram que não houve diferenças significativas entre as produções microbianas determinadas pelo método das bases purinas no abomaso e pela excreção de DP.

A estimativa dos requerimentos de proteína dietética para ruminantes é complexa, em função das alterações a que esta é submetida no rúmen. Portanto, deve-se considerar além das exigências de proteína para o animal, o requerimento de N e de energia para a síntese de proteína microbiana. Os teores de nitrogênio-uréico plasmático (NUP) têm sido utilizados com a finalidade de fornecer informações adicionais sobre o *status* da nutrição protéica de ruminantes, envolvendo a resposta metabólica destes a determinada dieta. Desta forma, pode-se evitar as perdas econômicas advindas do fornecimento excessivo de nitrogênio na dieta, devido aos elevados custos destes suplementos e os possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais. Sob o aspecto energético, ressalta-se que a síntese de uréia no fígado (ciclo da uréia) acarreta gastos substanciais de energia, que deixa de ser aproveitada para a produção (Amaral-Phillips, 2002). Segundo Westwood et al. (1998), dietas com altos teores de proteína bruta agravam o balanço energético negativo observado no pós-parto, devido, dentre outros

fatores, ao custo energético envolvido na síntese de uréia para eliminação da amônia.

A uréia é o principal produto final do metabolismo de proteína corporal, sendo uma pequena molécula solúvel em água e permeante a todas as células e tecidos corporais. Quando o NUP excede 19 – 20 mg/dL, a taxa de concepção pode ser reduzida em aproximadamente 20%(Butler et al., 1995). Em novilhos zebus alimentados com rações contendo 45% de concentrado e teores de proteína bruta de 7,0 a 14,5%, Valadares et al. (1997b) verificaram que a máxima produção microbiana correspondeu a concentrações de NUP variando de 13 a 15 mg/dL, o que provavelmente representaria o limite a partir do qual estaria ocorrendo perda de proteína.

Vários autores (Hennessy et al., 1995; Thomson et al., 1995; Valadares et al., 1997b; e 1999) demonstraram que a concentração plasmática de uréia está positivamente relacionada à ingestão de N.

O NUP geralmente atinge o máximo 4 a 6 horas após a alimentação. Além disso, as flutuações diárias são geralmente pequenas (2 a 3 mg/dL) em vacas alimentadas com dietas completas (Butler et al., 1995).

Nesse sentido, considerando o interesse de muitas pesquisas conduzidas atualmente no Brasil e em outros países, voltadas para a estimativa da excreção de compostos nitrogenados na urina, ou da produção de proteína microbiana com o uso de derivados de purinas, torna-se fundamental o conhecimento da excreção de creatinina para animais de diferentes sexos, categorias, estádios fisiológicos e potenciais de produção.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado a partir de dois experimentos, objetivando-se:

- Estimar as variações nas excreções diárias de creatinina, uréia e de derivados de purinas na urina utilizando coletas durante seis dias consecutivos; bem como avaliar as concentrações de uréia no plasma em novilhos alimentados com dois níveis de substituição da

proteína do farelo de soja pela uréia (0 e 100%) e dois níveis de oferta de concentrado (0,75 e 1,25% do peso vivo).

- Avaliar variações nas excreções diárias de creatinina e de uréia na urina utilizando coletas durante seis dias consecutivos em novilhas de origem leiteira. Avaliou-se também o efeito da duração do número de dias de coleta sobre a estimativa da produção microbiana obtida a partir dos derivados de purinas na urina.

LITERATURA CITADA

- AMARAL-PHILLIPS, D. M. Milk urea nitrogen: A nutritional evaluation tool. www.uky.edu/Agriculture/AnimalScience/dairy/extension/dairynutindex.html<10/01/2002>
- BUTLER, W.R.; CHERNEY, D.J.R.; ELROD, C.C. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. In: CORNELL PROCEEDINGS CONFERENCE, 1., 1995. Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1995. p.89-95.
- CARVALHO, A.U.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO da SILVA, J.F. et al. Níveis de concentrado na dieta de zebuínos. 3. Eficiência microbiana e população de protozoários ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.107-1015, 1997.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details (Occasional publication). INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute. 21 p. 1992.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. et al. Excreção de creatinina em novilhos e novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais....** Campo Grande, 2004, CD Rom. Nutrição de Ruminantes.
- CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.8, p.2304-2323, 1992.
- COTO, G.; RODRIGUES, M.M; INFANTE, F.P. et al. The effect of increasing consumption of concentrates, creatinine, creatine and allantoin in the urine of rams fed hay. **Cuban Journal Agricultural Science**, v.22, n.2, p.279-274, 1988.
- CRUZ SOTO, R.; MUHAMMED, S.A.; NEWBOLD, C.J. et al. Influence of peptides, amino acids and urea on microbial activity in the rumen of seep receiving grass hay and on growth of rumen bacteria *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, v.49, n.1-2, p.151-161, 1994.
- DIAS, H.L.C; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO da SILVA, J.F. et al. Eficiência de síntese microbiana, pH e concentrações ruminais de amônia em novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.555-563, 2000.
- FLEMING, S.A.; HUNT, E.L.; RIVIERE, J.E. et al. Renal clearance and fractional excretion of eletrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.1, p.5-8, 1991.
- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12. 1987.

- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de Química Fisiológica**. 5° ed. São Paulo: Atheneu. 1982. 736p.
- HENNESSY, D.W.; KOHUN, P.J.; WILLIAMSON, P.J. et al. The effect of nitrogen and protein supplementation on feed intake, growth and digestive function of steers with different *Bos indicus*, *Bos taurus* genotypes when fed a low quality grass hay. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.46, n.6, p.1121-1236, 1995.
- KOREN, A. Creatinine – urine. Medical encyclopedia. 2000. www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003610.htm. (18/11/2003).
- KRISHNA MOHAN, D.V.G.; RANJHAN, S.K. Growth nitrogen balance and nutrient intake in crossbred heifer calves fed different levels of energy and protein. **Ind. Journal Animal Science**, v.52, n.8, p. 638-642, 1982.
- LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 57p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.
- MAYES, R.W.; DOVE, H.; CHEN, X.B. et al. Advances in the use of faecal and urinary markers for measuring diet composition, herbage intake and nutrient utilization in herbivores. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE NUTRITION OF HERBIVORES, 4., 1995, Paris. **Proceedings...** Paris: INRA, 1995, p.381-406.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7 ed. Washington, DC.:National Academy, 1996. 242p.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativa das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- ØRSKOV, E. R.; MACLEOD, N.A. The determination of the minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and its physiological and practical implications. **British Journal Nutrition**, v.47, n.3, p. 625-636, 1982.
- PEREZ, J.F.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. et al. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with

- methods using ^{15}N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenal. **British Journal Nutrition**, v.75, p.699-709, 1996.
- RENNÓ, L. N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhas alimentadas com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 252p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Estimativas da excreção urinária de derivados de purinas e da produção de proteína microbiana em novilhos alimentados com níveis crescentes de uréia na ração. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife, 2002, CD Rom. Nutrição de Ruminantes.
- SIDDONS, R.C.; NOLAN, J.V.; BEEVER, D.E. et al. Nitrogen digestion and metabolism in seep consuming diets containing contrasting forms and levels of. **British Journal Nutrition**, v. 54, n.1, p. 175-187, 1985.
- SUSMEL, P.; SAPANGHERO, M.; STEFANON, B. et al. Digestibility and allantion excretion in cows fed diets containing in nitrogen content. **Livestock Production Science**, v.39, n.1, p. 97-99, 1994a.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-266, 1994b.
- THOMSON, D.U., PRESTON, R.L., BARTLE, S.J. Influence of protein source and level on the performance, plasma urea nitrogen and carcass characteristics of finishing beef steers. **Journal of Animal Science**., 73(1):257, 1995 (Abstract).
- VAGNONI, D.B.; BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. et al. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997a.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. 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.26, n.6, p. 1270-1278, 1997b.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p. 2686-2696, 1999.

- VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV/DZO, 1995. p.1259-1263.
- VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. Teores de Proteína em dietas de vacas de leite. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GADO DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2001.
- VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, E.H.B.K.; MAGALHÃES, K.A. et al. Alternativas para otimização da utilização de uréia para bovinos de corte. In: SINCORTE – SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 4., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004, p. 313-366.
- WESTWOOD, C. T.; LEAN, I. J.; KELLAWAY, R.C. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: A quantitative review. Part 2. Effects of dietary protein on reproductive performance. **New Zealand Veterinary Journal**, v.46, n.1, p.123-130, 1998.

Variações Diárias nas Excreções de Creatinina e Derivados de Purinas em Novilhos.

Resumo – Objetivou-se estimar as variações nas excreções diárias de creatinina, uréia e de derivados de purinas na urina, utilizando coletas durante seis dias consecutivos; e avaliar as concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) em novilhos submetidos a dietas que continham dois níveis de concentrado e duas fontes de proteína. Utilizaram-se quatro animais, machos castrados, de grau de sangue predominantemente Holandês com peso inicial médio de 445 kg, distribuídos em um quadrado latino 4X4, sendo os tratamentos definidos em esquema fatorial 2X2, sendo dois níveis de uréia (0 e 100%) em substituição ao farelo de soja e dois níveis de oferta de concentrado (0,75% e 1,25% do PV), e a comparação entre dias de avaliação foi conduzida em esquema de parcelas subdivididas. O volumoso, constituído de silagem de capim elefante (80%) e silagem de sorgo (20%), foi fornecido à vontade. As coletas de urina foram feitas durante seis dias consecutivos, utilizando-se funis coletores adaptados aos animais. A síntese de compostos nitrogenados microbianos foi maior ($P < 0,05$) para a maior oferta de concentrado e menor ($P < 0,05$), quando a proteína do farelo de soja foi substituída pela uréia. Não houve interação ($P > 0,05$) entre níveis de concentrado e de uréia para a concentração de NUP e a excreção de N-uréico na urina, nem efeito ($P > 0,05$) de níveis de uréia. As excreções urinárias de uréia, alantoína, ácido úrico e derivados de purinas totais não foram afetadas ($P > 0,05$) pelos dias de coleta de urina. Da mesma forma, a quantidade estimada de proteína microbiana não diferiu ($P > 0,05$) entre os dias de coleta de urina. Não houve diferença ($P > 0,05$) na excreção de creatinina entre os dias de coleta, apresentando o valor médio de 25,47 mg/kgPV, 117,92 mg/kg^{0,75} ou 1,04 mmol/kg^{0,75}. Conclui-se que a ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem uma grande aplicação prática, pois além de reduzir o trabalho com tempos longos de coletas, permite a redução nos custos da pesquisa, recomendando-se coletas de urina com duração de 24 horas.

Palavras-chave: coleta de urina, volume urinário, proteína microbiana, bovinos.

Daily Variations in Creatinine and Purine Derivatives Excretion in Steers.

Abstract – It was aimed to evaluate variations on the daily urinary excretion of creatinine, urea and purine derivatives, sampling during six consecutive days; and to evaluate the plasma N-urea concentration (NUP) for steers receiving diets with two levels of concentrate and two protein sources. Four castrated Holstein steers, with initial average live weight of 445 kg, were used. The animals was distributed in a 4x4 latin square, being the treatments defined by factorial outline 2x2, two urea levels (0 and 100%) replacing soybean meal and two levels of concentrate (0.75% and 1.25% of live weight - LW), the comparison between the evaluation days was lead using a split-plot design. The roughage, constituted of elephant grass silage (80%) and sorghum silage (20%), was supplied “*at libitum*”. The urine sampling were done during six consecutive days, using funnels collectors coupled in animals. The nitrogen microbial compounds synthesis was higher ($P<0.05$) for the higher use of concentrated and lower ($P<0.05$), when the protein from soybean meal was replaced by urea. There weren't found interaction ($P>0.05$) between the concentrate and urea levels for the concentration of NUP and urinary excretion of N-urea, neither effect ($P>0.05$) of urea levels. The urinary excretions of urea, allantoin, uric acid and total purine derivatives were not affected ($P>0.05$) by the days of urine sampling. In the same way, the amount of estimated microbial protein were not affected ($P>0.05$) by the days of urine sampling. The creatinine excretion were not affect by the days of urine sampling, presenting average values of 25,47 mg/kgLW, 117,92 mg/kg^{0.75} or 1,04 mmol/ kg^{0.75}. It can be inferred that the effect absence of the number of days on the creatinine excretion has a important practical application, because it reduces the long durations of sampling, as well as the research expenses, recommending urine samplings of 24-hour duration.

Key-words: sampling urine, urinary volume, microbial protein, cattle.

Introdução

O manejo nutricional é um dos principais fatores a ser considerado na produção de bovinos. A alimentação é responsável pela maior parcela dos custos da atividade, o que leva produtores e pesquisadores a utilizarem alimentos de mais baixo custo e que proporcionem aos animais desempenhos satisfatórios (Valadares Filho et al., 2004).

O objetivo básico dos estudos de alimentação de ruminantes visa maximizar a síntese de proteína microbiana, em virtude de seu excelente balanceamento de aminoácidos (Valadares Filho & Valadares, 2001). Assim torna-se de fundamental importância o estudo de métodos para estimar a produção de proteína microbiana de forma rápida e rotineira.

Existem vários métodos para medir a produção de compostos nitrogenados microbianos, incluindo a utilização de marcadores internos – bases púricas e ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA) – e externos, como ^{15}N e ^{35}S . Entretanto, estes métodos são laboriosos e requerem animais fistulados e a avaliação do fluxo da matéria seca no abomaso. Atualmente, o conforto animal tem recebido destaque na comunidade, havendo crescente interesse na substituição das fístulas implantadas nas diferentes partes do trato gastrointestinal por técnicas não-invasivas na condução de experimentos.

As pesquisas ao longo dos últimos anos, confirmaram a relação entre produção de proteína microbiana e excreção urinária de derivados de purina (DP). O método de excreção de DP assume que o fluxo duodenal de ácidos nucléicos é predominantemente de origem microbiana e, após digestão intestinal e absorção, os derivados de purinas são excretadas proporcionalmente na urina, principalmente na forma de alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (Perez et al., 1996).

A excreção de DP está diretamente relacionada com a absorção de purinas e, conhecendo-se a relação N purina/N total na massa microbiana (Chen & Gomes, 1992), a produção de N microbiano pode ser calculada, uma vez que a excreção endógena de DP e a relação quantitativa entre, a excreção de DP e a

absorção de purinas tenham sido previamente determinadas (Verbic et al., 1990; Orellana Boero et al., 2001).

O método baseado na excreção de DP requer coleta total de urina para quantificação da excreção diária dos derivados urinários de purina. Segundo Fleming et al. (1991) e Valadares et al. (1997a), o período de coleta com duração em 24 h poderia ser representativo da condição excretória do animal.

Contudo, na tentativa de simplificar a obtenção de dados experimentais e eliminar o desconforto causado por funis ou cateteres utilizados na coleta total, a creatinina excretada na urina tem sido utilizada como um indicador para estimar o volume urinário total. A excreção de creatinina é pouco afetada pelo teor de proteína, carboidratos não-fibrosos ou nitrogênio não-protéico da dieta (Susmel et al., 1994b; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997b; Oliveira et al., 2001 e Rennó et al., 2002), dessa forma não são esperadas variações devido à dieta.

A estimativa dos requerimentos de proteínas dietéticas para ruminantes é complexa, em função das alterações a que estas são submetidas no rúmen. Portanto, devem considerar além das exigências de proteína para o animal, o requerimento de N e de energia para a síntese de proteína microbiana. Os teores de nitrogênio uréico plasmático (NUP) têm sido utilizados com a finalidade de fornecer informações adicionais sobre o *status* da nutrição protéica de ruminantes. Assim, podem-se evitar as perdas econômicas advindas do fornecimento inadequado de proteína na dieta (devido aos elevados custos destes suplementos) e os possíveis prejuízos produtivos, reprodutivos e ambientais.

Dessa forma, objetivou-se no presente trabalho avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina, uréia e de derivados de purinas na urina, utilizando coletas durante seis dias consecutivos; bem como avaliar as concentrações de uréia no plasma em novilhos alimentados com dois níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela uréia (0 e 100%) e dois níveis de oferta de concentrado (0,75 e 1,25% do peso vivo).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG.

A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas de posição 20°45'20" de latitude sul e 45°52'40" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 657m. A temperatura média e a precipitação pluviométrica observada nos anos de 2000 e 2001 foram de, respectivamente, 20°C e 1217,9 mm e 20,7°C e 1148 mm (Universidade Federal de Viçosa, 2002).

Foram utilizados quatro animais, machos, castrados, de grau de sangue predominantemente Holandês, com peso vivo médio inicial de 445 kg, sendo mantidos em regime de confinamento, alojados em baias individuais cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, de 3 x 3 m de área, e dotadas de comedouros e bebedouros de alvenaria individuais.

Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 4x4, sendo os tratamentos definidos por esquema fatorial 2X2, sendo dois níveis de uréia (0 e 100%) em substituição ao farelo de soja e dois níveis de oferta de concentrado (0,75% e 1,25% do peso vivo).

A fração volumosa foi constituída de silagem de capim-elefante e silagem de sorgo numa relação (80:20), respectivamente.

A alimentação foi fornecida uma vez ao dia, na forma de ração completa, sendo o volumoso fornecido à vontade, de modo a permitir sobras de no máximo 5%. Diariamente foram registradas as quantidades de alimentos fornecidos e das sobras de cada animal. As estimativas de consumo e digestão deste experimento foram relatadas por Paixão (2005).

Na Tabela 1 pode-se visualizar a proporção dos ingredientes das dietas experimentais e nas Tabelas 2 e 3 a composição química dos ingredientes e na das dietas, respectivamente.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes nos concentrados, na base da matéria natural para os diferentes tratamentos

Ingredientes	Concentrados ¹			
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
Fubá de milho, %	46,80	89,30	71,80	94,24
Farelo de Soja, %	50,20	-	26,40	-
Uréia, %	-	7,00	-	3,60
Sulfato de amônia, %	-	0,70	-	0,36
Sal mineral, %	3,00	3,00	1,80	1,80

¹ - C₁ e C₂ = 0,75% PV; C₃ e C₄ = 1,25% PV.
Adaptada de Paixão (2005).

Tabela 2 – Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro (NIDN) e em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHOT), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) dos concentrados e das silagens de capim-elefante e de sorgo

Itens	Concentrados				Silagem de capim elefante	Silagem de Sorgo
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄		
MS ¹	88,09	87,54	87,44	86,85	32,70	26,52
MO ¹	94,48	96,41	96,31	97,47	91,71	94,07
PB ¹	29,87	30,57	20,58	20,71	5,90	6,12
NIDN ²	7,23	8,30	8,19	8,75	15,90	39,39
NIDA ²	3,93	4,69	4,55	4,95	14,20	11,69
EE ¹	2,09	3,18	2,78	3,35	1,86	2,48
CHOT ¹	62,52	62,66	72,95	73,41	85,59	84,02
FDN ¹	12,13	9,28	11,29	9,80	69,81	54,28
FDNcp ¹	9,94	7,45	8,88	7,93	64,48	49,16
CNF ¹	52,58	55,21	64,07	65,48	21,11	34,86
FDA ¹	6,10	2,54	4,55	2,64	50,10	32,86
LIG ¹	1,66	2,27	1,57	1,94	4,52	3,13

¹ - %MS; ² - % do N total; C₁ e C₂ = 0,75% PV; C₃ e C₄ = 1,25% PV.
Adaptada de Paixão (2005).

Tabela 3 – Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro (NIDN) e em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHOT), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF), fibra em detergente ácido (FDA), e lignina (LIG) das dietas

Itens	Dietas			
	0,75 FS	0,75 U	1,25 FS	1,25 U
MS ¹	51,99	51,44	59,89	60,98
MO ¹	93,01	93,69	94,28	95,00
PB ¹	14,61	14,72	13,38	13,81
NIDN ²	15,75	16,22	14,30	14,28
NIDA ²	10,16	10,49	9,05	9,04
EE ¹	2,02	2,41	2,39	2,71
CHOT ¹	76,36	76,54	78,50	78,46
FDN ¹	46,93	46,25	38,56	36,38
FDNcp ¹	42,76	42,19	34,73	32,91
CNF ¹	29,45	34,80	39,95	45,55
FDA ¹	31,96	30,94	25,27	23,19
LIG ¹	3,31	3,54	2,88	3,02

¹ - %MS; ² - % do N total; FS = Farelo de Soja e U = Uréia.

Adaptada de Paixão (2005).

Foram conduzidos quatro períodos experimentais, os quais tiveram duração de 14 dias cada, sendo 8 dias de adaptação e 6 dias para as coletas de urina. Os animais foram pesados no início e no final de cada período experimental.

A urina foi coletada, utilizando-se funis coletores adaptados aos animais, dotados de mangueiras de polietileno que conduziam a urina até galões plásticos contendo 500 mL de solução de ácido sulfúrico a 20% para evitar perda de nitrogênio. Ao término de cada período de 24 h de coleta, foi determinado o peso total excretado. Posteriormente, o conteúdo do galão foi homogeneizado e então, coletadas amostras de 40 mL que foram centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos e diluídas com 160 mL de ácido sulfúrico 0,036N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purina urinários e precipitação de ácido úrico. Uma outra amostra de 200 mL foi coletada sem proceder à diluição, para determinação dos teores de uréia e creatinina. Devidamente identificadas, as amostras foram armazenadas a de -15°C para posteriores análises laboratoriais.

Quatro horas após o fornecimento da ração, no terceiro dia de coleta de cada período experimental, realizou-se a coleta de sangue via punção da veia jugular, utilizando-se heparina como anticoagulante, sendo as amostras imediatamente centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos para separação do plasma, que foi em seguida armazenado a -15°C .

A avaliação da concentração de uréia na urina e no plasma foi realizada segundo o método diacetil modificado (kits comerciais). A estimativa da concentração de creatinina na urina e no plasma, foram realizadas usando-se kits comerciais (Labtest), pelo método de ponto final, com utilização de picrato e acidificante.

A concentração de NUP foi obtida por meio do produto da concentração da uréia, multiplicada por 0,466, correspondente ao teor de N na uréia.

Nas amostras de urina diluída foram realizadas as análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção de derivados de purinas (DP) na urina em 24 horas foi calculada, multiplicando-se o volume urinário em 24 horas pela concentração dos DP na amostra de urina da coleta total.

As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$DP = 0,85 \cdot Pabs + 0,385 \cdot PV^{0,75},$$

em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 \cdot PV^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al., 1990).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (Nmic, g N/dia) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação:

$$Nmic = (70 \cdot Pabs) / (0,83 \cdot 0,116 \cdot 1000),$$

em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol), 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 a relação N purina: N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992).

O experimento foi analisado segundo delineamento quadrado latino 4x4 em esquema fatorial 2x2 (dois níveis de concentrado e dois níveis de inclusão de uréia no concentrado). A comparação entre dias de avaliação foi conduzida em esquema de parcelas subdivididas. Para todos os procedimentos estatísticos adotou-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

Estão apresentadas na Tabela 4 as médias obtidas para as excreções diárias de creatinina, expressas em mg/kgPV e $\text{mg/kg}^{0,75}$ em função dos níveis de oferta de concentrado e de inclusão de uréia nas dietas.

Tabela 4 - Médias para as excreções diárias de creatinina em função dos níveis uréia e de oferta de concentrado

Níveis de Uréia (%) ⁽¹⁾	Níveis de Concentrado (%PV) ⁽¹⁾	
	0,75	1,25
	<i>mg/kgPV</i> ⁽²⁾	
0	25,37 Aa	26,20 Aa
100	23,85 Ab	26,48 Aa
	<i>mg/kg</i> ^{0,75} ⁽³⁾	
0	117,34 Aa	121,24 Aa
100	110,47 Ab	122,65 Aa

⁽¹⁾ – Médias na coluna seguidas por letras maiúsculas diferentes, ou nas linhas seguidas por letras minúsculas diferentes, são diferentes pelo teste F (P < 0,05). ⁽²⁾ CV (%) = 8,56. ⁽³⁾ CV (%) = 8,54.

Houve interação (P < 0,05) entre níveis de oferta de concentrado e níveis de inclusão de uréia para a excreção urinária de creatinina, expressa em mg/kgPV ou

mg/kg^{0,75}. Avaliando dentro de cada nível de concentrado, observa-se que as excreções de creatinina não variaram independente da presença de uréia. Contudo, ao se avaliar dentro de cada nível de uréia utilizado, nota-se que na ausência de uréia (0%) nas dietas, as excreções de creatinina não diferiram ($P>0,05$) para os níveis de 0,75 e 1,25 % de oferta de concentrado. No entanto, nas dietas com uréia (100%) as excreções de creatinina foram maiores ($P<0,05$) para o nível de 1,25 % de oferta de concentrado.

Esses resultados não eram esperados. Vários trabalhos mostraram resultados para excreções de creatinina constantes independente do tratamento. Oliveira et al. (2001) em estudo com vacas Holandesas, recebendo dietas com níveis crescentes de uréia, não verificaram diferenças nas excreções de creatinina, que foram em média 23,41 mg/kgPV. A ausência de efeito dos níveis de uréia e de proteína na dieta sobre a excreção de creatinina foi relatada por Rennó (2003), em estudo com novilhos Holandeses e mestiços. Ørskov & Macleod (1982) relataram também, relativa constância na excreção de creatinina, e afirmaram ser essa pouco afetada pelo teor de compostos nitrogenados da dieta.

Em outras pesquisas, também não foi identificado influência da dieta sobre a excreção de creatinina (Susmel et al., 1994; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997b; Rennó et al., 2000; Nsahlai et al., 2000; Silva, et al., 2001; Chizzotti et al., 2004).

Na Tabela 5 são apresentadas as excreções de creatinina, expressas em mg/kgPV, mg/kg^{0,75} ou mmol/kg^{0,75} em diferentes dias de coleta total de urina. Não houve diferença ($P>0,05$) na excreção de creatinina entre os dias de coleta. Valadares et al. (1997a), avaliando a coleta de urina em vacas, não verificaram diferenças na excreção de creatinina, expressa em g/h, g/24h, mg/h/kg^{0,75} e mg/24h/kg^{0,75}, determinada através dos tempos de coleta de 12, 24, 48 e 72 horas, todavia houve menor excreção para a coleta de 96 horas, a qual foi atribuído a problemas relacionados com o uso de sondas. Sendo assim, recomendaram a utilização da coleta total de 24 horas para determinar a excreção urinária diária.

Tabela 5 – Médias e coeficientes de variação (CV%) obtidas para a excreção de creatinina (EC) em função dos dias de coleta de urina

EC ¹	Dias de Coleta						Média Geral	CV
	1	2	3	4	5	6		
mg/kgPV	25,28	25,39	25,76	25,84	25,74	24,81	25,47	8,56
mg/kg ^{0,75}	117,02	117,58	119,27	119,65	119,16	114,87	117,92	8,54
mmol/kg ^{0,75}	1,04	1,04	1,06	1,06	1,06	1,02	1,04	8,51

¹ – Efeito relativo a dias de coletas não-significativo pelo teste de Scott-Knott ($P > 0,05$).

A ausência de diferença significativa em tempos menores de coleta para excreção de creatinina foi observada por Fleming et al. (1991), que avaliaram coletas de 6, 12, 18 e 24 horas em vacas adultas pesando entre 427 e 622 kg. Em uma pesquisa com os mesmos tempos de coleta, Chizzotti (2004) não encontrou diferença na excreção de creatinina expressas em mg/kgPV, mg/kg^{0,75}, mmol/kg^{0,75}, g/h ou g/24h. Nsahlai et al. (2000) coletaram amostra *spot* de urina em três períodos distintos (08:00-9:30; 14:00-15:30 e 20:00-21:30 h) durante seis dias de coleta e não verificaram influência do horário de coleta sobre as concentrações de creatinina e de DP na urina.

A excreção média de creatinina encontrada por Rennó et al. (2000), em quatro experimentos, com novilhos com peso médio de 283 kg, foi de 27,36 mg/kg PV. Em outro experimento conduzido por Rennó et al. (2002), a excreção de creatinina foi de 27,76, onde o peso médio dos novilhos foi de 278 kg. Esses valores são aproximadamente 8% maiores que os encontrados neste experimento, em que o peso médio dos novilhos foi de 445kg e a excreção média de 25,47 mg/kgPV. Contudo, se expressos em mg/kg^{0,75}, os valores obtidos no presente experimento foram 3,5 % maiores que os obtidos por Rennó et al. (2002) de 113,75 mg/kg^{0,75}. Entretanto, outros autores têm obtido valores de 24,26 mg/kgPV (Valadares et al., 1997b) e de 23,41 (Oliveira et al., 2001) em vacas mestiças Holandês x Zebu. Esta diferença deve estar associada às variações na proporção

de tecidos de animais em crescimento. Conforme já discutido, a creatinina é oriunda do metabolismo protéico do tecido muscular e possivelmente excretada proporcionalmente à quantidade deste tecido no animal.

Simpfendorfer (1974), citado pelo NRC (2001), sumarizou dados relativos à composição corporal de bovinos do nascimento à maturidade e encontrou que 96 a 99% da variação na composição química estava associada a diferenças de peso de bovinos com tamanhos à maturidade semelhantes. Segundo o NRC (1996), se um animal é alimentado com dieta que contém energia adequada, a porcentagem de proteína diminui e a de gordura aumenta no corpo vazio, à medida que seu peso se aproxima do peso à maturidade. Desta forma, em animais em crescimento, a porcentagem de tecido muscular varia de acordo com o peso animal, conseqüentemente, a excreção de creatinina em mg/kg de peso pode ser alterada. Animais adultos possuem menor variação na composição corporal e, portanto, a excreção de creatinina em função do peso vivo pode tornar-se menos variável.

Rennó (2003) estudou o efeito do grupo genético (Holandês, ½ sangue Holandês-Guzerá, ½ sangue Holandês-Gir e Zebú) sobre a excreção de creatinina, expressa em função do peso vivo, em dois experimentos e não detectou diferença significativa entre os grupos. No primeiro experimento, o peso inicial dos animais dos grupos genéticos Holandês, ½ sangue Holandês-Guzerá, ½ sangue Holandês-Gir e Zebu foi de 330, 294, 289 e 198 kg e a média de excreção diária de creatinina foi de 26,6; 28,7; 28,7 e 27,0 mg/kgPV, respectivamente. Chizzotti et al. (2004) encontraram variações na excreção de creatinina em dois estudos com novilhos e novilhas de grau de sangue predominantemente Holandês. A média encontrada para novilhos com peso médio de 259 kg, foi de 27,99 mg/kgPV e para as novilhas com diferentes pesos, a excreção de creatinina variou entre 26,43 e 30,53 mg/kgPV para os pesos médios de 523 e 118 kg, respectivamente, sendo que as novilhas pesando em torno de 453 kg apresentaram valores de 118,3 mg/kg^{0,75}, próximos aos de 117,92 mg/kg^{0,75} obtidos no presente trabalho.

A ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina pode reduzir o trabalho com tempos longos de coletas, além de permitir a redução nos custos da pesquisa.

As médias e coeficientes de variação para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico, derivados de purinas, as purinas absorvidas e a estimativas de síntese de compostos nitrogenados microbianos em função dos níveis de uréia e de oferta de concentrado na dieta, estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Médias e coeficientes de variação (CV%) para as excreções urinárias de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), purinas absorvidas (Pabs) e estimativas de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) em função dos níveis de oferta de concentrado e uréia

Itens	Níveis de Concentrado (%)		Níveis de Uréia (%)		CV(%)	Efeito ^{1,2}		
	0,75	1,25	0	100		C	U	CxU
ALA ³	177,3	203,0	203,8	176,5	20,6	*	*	ns
AcU ³	15,0	16,8	16,4	15,3	17,0	*	Ns	ns
DP ³	192,3	219,8	220,2	191,8	18,9	*	*	ns
Pabs ³	181,2	213,6	214,2	180,6	23,2	*	*	ns
Nmic ⁴	131,8	155,3	155,7	131,3	23,2	*	*	ns

¹ – C, U e CxU: efeitos relativos aos níveis de concentrado, uréia e sua interação, respectivamente;

² – ns, *: não-significativo e significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente; ³ – mmol/dia; ⁴ – g/dia.

Não foi observada interação ($P > 0,05$) entre nível de concentrado e uréia para nenhuma das variáveis estudadas. Observa-se que as purinas totais, purinas absorvidas e as estimativas da produção de compostos nitrogenados microbianos foram maiores ($P < 0,05$) para a maior oferta de concentrado e menores ($P < 0,05$) quando se substituiu a proteína do farelo de soja pela uréia. Isso pode estar relacionado ao fato dos animais terem apresentado comportamento similar para o consumo de MS (em kg/dia), conforme descrito por Paixão (2005). Assim, os

animais que consumiram mais nutrientes apresentaram maior síntese ruminal de microrganismos. De acordo com Van Soest (1994), aumentos na ingestão proporcionam maior escape de microrganismos para o duodeno.

Rennó et al. (2002) não encontraram efeito da adição de uréia em níveis crescentes na ração (0; 0,65; 1,3 e 1,95 na MS) de novilhos de diferentes grupos genéticos sobre a excreção de derivados de purinas totais e estimativas da produção de nitrogênio microbiano, contudo, encontraram menores valores numéricos para o maior nível de uréia.

No presente trabalho, a excreção de alantoína refletiu a excreção das purinas totais, sendo afetada pelo nível de oferta de concentrado e nível de uréia. A proporção de alantoína em relação às purinas totais foi de aproximadamente 92,2%. Verbic et al. (1990) encontraram a proporção de 85% de alantoína em relação aos derivados de purinas, enquanto Leão (2002) e Rennó et al. (2002) relataram em novilhos, o valor médio de 87,9 e 91,7%, respectivamente. O presente trabalho não analisou a excreção de xantina e hipoxantina, pois estas não estão presentes em quantidades significativas na urina de bovinos (Chen & Gomes, 1992).

Na Tabela 7 estão apresentadas as médias para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico, derivados de purinas totais, purinas absorvidas e as estimativas dos compostos nitrogenados microbianos, em função dos dias de coleta de urina. As excreções de alantoína e de derivados de purinas não foram afetadas ($P>0,05$) pelo dia de coleta de urina. Esse comportamento foi semelhante ao apresentado para as purinas microbianas absorvidas e para os compostos nitrogenados microbianos.

A eficiência microbiana foi em média 136,3 g de PBmic/kg de NDT, considerando o teor de NDT da dieta de 64,85 em percentagem da matéria seca (Paixão, 2005). Este valor foi semelhante ao citado pelo NRC (2001) de 130g PB mic/kg de NDT e 17,4% maior que o valor médio encontrado por Paixão (2005) de 112,55 g de PBmic/kg de NDT em um estudo que submeteu 16 novilhos com peso inicial médio de 286 kg aos mesmos tratamentos do presente trabalho. A autora relatou que a eficiência de síntese microbiana não foi afetada pela fonte protéica e

pelos níveis de concentrado. O valor encontrado pela autora pode ter sido subestimado, pois essa utilizou o valor de 24,04 mg/kg PV para estimar a excreção de creatinina.

Tabela 7 – Médias e coeficientes de variação (CV%) para as excreções urinárias de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), purinas absorvidas (Pabs) e estimativas de síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) em função dos dias de coleta de urina

Itens	Dias de Coleta						Média Geral	CV
	1	2	3	4	5	6		
ALA ^{1,2}	196,1	187,2	190,0	185,5	189,4	192,6	190,2	20,56
AcU ^{1,2}	16,2	14,9	15,6	15,2	16,1	17,1	15,9	16,97
DP ^{1,2}	212,3	202,1	205,7	200,8	205,6	209,8	206,0	18,91
Pabs ^{1,2}	204,8	192,8	197,0	191,2	196,8	201,8	197,4	23,22
Nmic ^{1,3}	148,9	140,2	143,2	139,0	143,1	146,7	143,5	23,22

¹ – Efeito relativo a dias de coleta não-significativo pelo teste F ($P>0,05$); ² – mmol/dia; ³ – g/dia.

Na Tabela 8 são apresentadas as médias para as concentrações de uréia no plasma (UP), N uréico no plasma (NUP) e as excreções urinárias de uréia (EUU) e N uréico (NUU) em função dos níveis de uréia e de oferta de concentrado nas dietas.

A concentração de NUP não foi afetada ($P>0,05$) pela fonte protéica ou pelos níveis de concentrado, porém Paixão (2005), em estudo utilizando 16 novilhos submetidos a tratamentos semelhantes, observou que esta variável foi afetada pelos níveis de concentrado. Segundo Broderick (1995), a concentração elevada de uréia plasmática está relacionada com a utilização ineficiente da proteína bruta da dieta. A concentração plasmática de uréia é positivamente relacionada com a ingestão de N (Valadares et al., 1997b) e influenciada pelos teores de PDR e PNDR (Roseler et al., 1993).

Tabela 8 – Médias e coeficientes de variação (CV%) para as concentrações de uréia no plasma (UP) e N-uréia no plasma (NUP) e as excreções de uréia na urina (EUU) e N-uréia na urina (NUU), em função dos níveis de uréia e de oferta concentrado

Itens	Níveis de Concentrado (%)		Níveis de Uréia (%)		CV(%)	Efeito ^{1,2}		
	0,75	1,25	0	100		C	U	CxU
UP (mg/dL)	39,9	33,0	36,0	36,9	27,0	ns	ns	ns
NUP (mg/dL)	18,6	15,4	16,8	17,2	27,0	ns	ns	ns
EUU (g/dia)	228,4	200,9	203,4	225,9	12,0	*	ns	ns
NUU (g/dia)	106,4	93,6	97,8	105,3	12,0	*	ns	ns
EUU (mg/kgPV)	499,8	436,6	446,3	490,0	11,3	*	ns	ns
NUU (mg/kgPV)	232,9	203,4	208,0	228,3	11,3	*	ns	ns

¹ – C, U e CxU: efeitos relativos aos níveis de concentrado, uréia e sua interação, respectivamente;

² – ns e *: não-significativo e significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Embora a excreção de uréia em função do peso vivo tenha apresentado efeito ($P < 0,05$) para o nível de concentrado, os valores apresentaram comportamento similar à concentração de NUP, confirmando a afirmação de Harmeyer & Martens (1980) de que a quantidade de uréia excretada na urina é diretamente proporcional à sua concentração no plasma. Como já foi discutido anteriormente, o nível de oferta de concentrado de 1,25% PV refletiu na maior produção de compostos nitrogenados microbianos, portanto, isto pode ter resultado nas menores ($P < 0,05$) perdas urinárias de uréia encontradas neste tratamento.

Rennó (2003) observou aumento linear na concentração de NUP e excreções médias de uréia de 350,5 mg/kgPV, em função dos níveis de uréia (0; 0,65; 1,3 e 1,95 na MS) na dieta de novilhos com aproximadamente 12% PB. Por outro lado, Magalhães (2003) utilizando níveis semelhantes de uréia, citados anteriormente, em novilhos holandesados, não encontraram diferença quanto ao NUP e EEU, sendo as médias de 14,92 mg/dL e 458,95 mg/kgPV, respectivamente. Leão (2002) encontrou concentração média de N-uréia no

plasma de 19,30 mg/dL em novilhos ½ Holandês-Zebu submetidos a dieta com 13% de PB.

Na Tabela 9 são apresentadas as médias e o erro padrão da média para as excreções diárias de uréia e N-uréia, em função dos dias de coleta da urina. Os dias de coleta não influenciaram as excreções de uréia ($P>0,05$), portanto coletas de 24 horas de duração permitem, de uma forma geral, a obtenção de amostras representativas da condição animal para as variáveis estudadas no presente experimento.

Tabela 9 – Médias e coeficientes de variação (CV%) para as excreções de uréia na urina (EUU) e N-uréia na urina (NUU) em função dos dias de coleta

Itens	Dias de Coleta						Média Geral	CV
	1	2	3	4	5	6		
EUU ¹ (g/dia)	209,2	208,1	213,5	216,6	218,0	222,4	214,6	12,0
NUU ¹ (g/dia)	97,5	97,0	99,5	100,9	101,6	103,6	100,0	12,0
EUU ¹ (mg/kgPV)	454,5	452,6	464,2	479,0	474,8	483,9	468,2	11,3
NUU ¹ (mg/kgPV)	211,8	210,9	216,3	223,2	221,2	225,5	218,2	11,3

¹ – Efeito relativo a dias de coleta não-significativo pelo teste F ($P>0,05$).

Conclusões

A ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem uma grande aplicação prática, pois além de reduzir o trabalho com tempos longos de coletas, permite a redução nos custos da pesquisa.

Não há necessidade de utilizar períodos longos para as coletas de urina. Sugere-se que essas coletas sejam efetuadas durante 24 horas.

A excreção de creatinina foi em média 25,47 mg/kgPV, 117,92 mg/kg^{0,75} e 1,04 mmol/kg^{0,75}, em bovinos com aproximadamente 450 kg de peso vivo.

Literatura Citada

- BRODERICK, G.A. Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow. USDA, Agricultural Research Service. US Dairy Forage Research Center, 1995. **Research Summaries**, 122p.
- 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 (Occasional publication). INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute. 21 p. 1992.
- CHIZZOTTI, M. L. **Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 132p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. et al. Excreção de creatinina em novilhos e novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 2004, CD Rom. Nutrição de Ruminantes.
- FLEMING, S.A.; HUNT, E.L.; RIVIERE, J.E. et al. Renal clearance and fractional excretion of eletrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.1, p.5-8, 1991.
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.
- LEÃO, M.I. **Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 57p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.
- MAGALHÃES, K. A. **Níveis de uréia ou casca de algodão na alimentação de novilhos de origem leiteira em confinamento.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 90p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle.** 7.ed. Washington, D.C.:National Academy, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle.** 7. ed.National Academic Press. Washinton, D.C.: 2001. 381p.
- NSAHLAI, I.V.; OSUJI, P.O.; UMUNNA, N.N. Effect of form and of quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary *spot* samples, daily

- microbial N supply and predictability of intake. **Animal Feed Science and Technology**, v.85, p.223-238, 2000.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativa das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- ØRSKOV, E. R.; MACLEOD, N.A. The determination of the minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and its physiological and practical implications. **British Journal Nutrition**, v.47, n.3, p. 625-636, 1982.
- PAIXÃO, M. L. **Uréia em dietas para bovinos: desempenho, consumo, digestibilidade, parâmetros ruminais e variação diária na excreção de indicadores**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 72p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- 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 ¹⁵N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. **British Journal Nutrition**, v.75, p.699-709, 1996.
- RENNÓ, L. N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhas alimentadas com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 252p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Estimativas da excreção urinária de derivados de purinas e da produção de proteína microbiana em novilhos alimentados com níveis crescentes de uréia na ração. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife, 2002, CD Rom. Nutrição de Ruminantes.
- ROSELER, D.K.; FERGUNSON, J.D.; SNIFFEN, C.J. et al. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal. Dairy Science**, v.76, n.1, p.525-534, 1993.
- SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.

- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-266, 1994.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- VAGNONI, D.B.; BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. et al. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997a.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. 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.26, n.6, p. 1270-1278, 1997b.
- VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. Teores de Proteína em dietas de vacas de leite. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GADO DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2001.
- VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, E.H.B.K.; MAGALHÃES, K.A. et al. Alternativas para otimização da utilização de uréia para bovinos de corte. In: SINCORTE – SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 4., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004, p. 313-366.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

Variações Diárias nas Excreções de Creatinina e Derivados de Purinas em Novilhas.

Resumo – Objetivou-se avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina e de uréia na urina, utilizando coletas durante seis dias consecutivos em novilhas de origem leiteira; avaliou-se também o efeito da duração do período de coleta sobre a estimativa da produção microbiana obtida a partir dos derivados de purinas na urina. Utilizaram-se onze novilhas de grau de sangue predominantemente Holandês, com peso inicial médio de 280 kg, considerando-se o grupo de animais como uma amostra aleatória simples da população. Para comparação entre dias de coletas, empregou-se análise de variância como ferramenta para isolamento do erro puro, adotando-se modelo constituído pelo efeito aleatório de animal e pelo efeito fixo de dia de avaliação. O volumoso foi constituído de silagem de milho fornecida à vontade. Diariamente foi fornecido 2,0 kg de concentrado por animal. O período experimental teve duração de seis dias, pois os animais já estavam adaptados à dieta. As coletas de urina foram realizadas utilizando-se sondas de Folley nº 22 ou 26, sendo determinado o volume urinário diário. As excreções urinárias de creatinina, uréia, alantoína, ácido úrico e derivados de purinas totais também não foram afetadas ($P>0,05$) pelos dias de coleta de urina. Da mesma forma a quantidade estimada de proteína microbiana não diferiu ($P>0,05$) entre os dias de coleta de urina. O valor médio para a excreção de creatinina foi de 30,5 mg/kgPV, 124,84 mg/kg^{0,75} ou 1,1 mmol/kg^{0,75}. Conclui-se que a ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem uma grande aplicação prática, pois além de reduzir o trabalho com tempos longos de coletas, permite a redução nos custos da pesquisa, recomendando-se coletas de urina com duração de 24 horas.

Palavras-chave: coleta de urina, volume urinário, proteína microbiana.

Daily Variations in Creatinine and Purine Derivatives Excretion in Heifers.

Abstract – It was aimed to determine variations in the daily urinary excretions of creatinine and nitrogen compounds, sampling during six consecutive days for dairy heifers, the effect of number of sampling days in the estimated microbial production was also evaluated. Eleven dairy Holstein heifers, with initial live weight of 280 kg, were used, being a simple sample of a population. To perform the comparison between the sampling days, the variance analyses method was used as a pure error isolation tool, adopting a model which considers the random effect of animal and the constant effect of the evaluation day. The roughage was composed by corn silage supplied “*at libitum*”. Daily 2 kg of concentrate were supplied for each animal. The experimental period had a six day duration because the animals were adapted to the diet. To determine the daily urinary amount, No. 22 or 26 Folley catheters were used. The was not affected ($P>0.05$) by the days of urine sampling. The urinary excretion of creatinine, urea, allantoin, uric acid and the total purine derivatives excretions were not affected ($P>0.05$) by the days of urine sampling. The amount of estimated microbial protein were not affected ($P>0,05$) by the days of urine sampling either. The average value for the creatinine excretion was 30,5 mg/kgLW, 124,84 mg/kg^{0.75} or 1,1 mmol/kg^{0.75}. It can be inferred that the effect absence of the number of days on the creatinine excretion has a important practical application, because it reduces the long durations of sampling, as well as the research expenses, recommending urine samplings of 24-hour duration.

Key-words: sampling urine, urinary volume, microbial protein, cattle.

Introdução

Análises de urina têm grande aplicação em experimentos de nutrição. Entretanto o tempo de coleta necessário para a obtenção de amostras representativas da condição do animal tem variado bastante entre estudos. Chen & Gomes (1992) afirmaram que, para reduzir erros devidos a variações na produção urinária, as coletas de urina deveriam ser feitas durante ao menos cinco dias. Na literatura consultada registraram-se tempos variando entre nove dias (Siddons et al., 1985); sete dias (Krishna Mohan & Ranjhan, 1982); seis dias (Ørskov & MacLeod, 1982); cinco dias (Cruz Soto et al., 1994, Hennessy et al., 1995) e três dias (Coto et al., 1988), sendo que nesses experimentos utilizaram animais em gaiolas de metabolismo.

Poucos experimentos nos quais se utilizaram fêmeas com cateteres foram descritos e variaram com coletas de cinco dias (Susmel et al., 1994a), quatro dias (Valadares et al., 1997a) e três dias (Vagnoni et al., 1997). Deve-se ressaltar que o uso de cateteres pode causar desconforto e aumentar o risco de infecções urogenitais, principalmente quando usado por tempo prolongado.

Segundo Fleming et al. (1991) e Valadares et al. (1997a), o período de coleta com duração de 24 h poderia ser representativo da condição excretória do animal. Contudo, há necessidade de se validar o uso da coleta com 24 horas de duração.

Na tentativa de simplificar a obtenção de dados experimentais, a creatinina excretada na urina tem sido utilizada como um indicador para estimar o volume urinário total. A creatinina é formada no músculo pela remoção de água da creatina-fosfato, originada do metabolismo do tecido muscular (Harper et al., 1982). A molécula de creatina-fosfato é degradada espontaneamente a taxas relativamente constantes formando a creatinina. A creatinina é um produto metabólico do qual o corpo já não necessita, não sendo utilizada para formação de novas moléculas e, portanto, excretada em grandes quantidades pelo rim. A produção diária de creatina, por conseguinte, a excreção de creatinina é dependente da massa muscular e portanto, proporcional ao peso do animal

(Koren, 2000). Assim, uma vez determinada a excreção diária de creatinina em função do peso do animal e considerando a concentração desta constante ao longo do dia, pode-se estimar o volume urinário excretado a partir da concentração de creatinina em uma amostra de urina coletada de um animal de peso conhecido. A excreção de creatinina é pouco afetada pelo teor de proteína, carboidratos não-fibrosos ou nitrogênio não-protéico da dieta (Susmel et al., 1994b; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997b; Oliveira et al., 2001 e Rennó et al., 2002), dessa forma, não são esperadas variações devido à dieta.

Se a excreção de creatinina puder ser considerada constante, haverá um enorme progresso na estimação da produção de proteína microbiana através da excreção dos derivados de purina na urina, tanto para rebanhos leiteiros confinados ou manejados a pasto.

Entretanto, devido ao fato dos animais apresentarem proporções diferentes de tecidos em cada estágio de desenvolvimento, é possível que haja variações nas excreções diárias de creatinina (expressa em função do peso vivo do animal), visto que ela é sintetizada no tecido muscular.

Deste modo, objetivou-se no presente trabalho estimar variações nas excreções diárias de creatinina e de uréia na urina utilizando coletas durante seis dias consecutivos em novilhas de origem leiteira. Avaliou-se também o efeito da duração do período de coleta sobre a estimativa da produção microbiana obtida a partir dos derivados de purinas na urina.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia (DZO), da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa - MG.

A cidade de Viçosa está localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais e tem como coordenadas geográficas de posição 20°45'20" de latitude sul e 45°52'40" de longitude oeste de Greenwich e altitude de 657m. A temperatura

média e a precipitação pluviométrica observada nos anos de 2000 e 2001 foram de, respectivamente, 20°C e 1217,9 mm e 20,7°C e 1148 mm (Universidade Federal de Viçosa, 2002).

Foram utilizadas 11 novilhas da raça Holandesa com peso médio inicial de 280 kg, sendo mantidas em baias cobertas, providas de comedouros e bebedouros individuais.

A alimentação foi constituída de silagem de milho à vontade e concentrado em quantidades equivalentes ao manejo do rebanho da UEPE-GL (2 kg por animal diariamente), sendo fornecida diariamente as 8 e 16 h, de modo a permitir sobras de 5% na base da matéria seca total, que foram quantificadas e amostradas diariamente pela tarde.

A composição percentual dos ingredientes na mistura concentrada é mostrada na Tabela 1 e a composição média da silagem de milho, do concentrado e da dieta pode ser vista na Tabela 2.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes na ração concentrada, expressas em percentagem com base na matéria natural

Ingredientes	%
Fubá de milho	51,60
Farelo de soja	19,90
Farelo de trigo	11,20
Farelo de algodão	13,60
Uréia + sulfato de amônia	2,90
Fosfato Bicálcico	0,17
Calcário calcítico	0,13
Sal mineralizado ¹	0,54

¹ Sal comum (80,80 %); Sulfato de Zinco (7,02 %); Sulfato de Ferro (5,46 %); Sulfato de manganês (5,04 %); Sulfato de cobre (1,62 %); Sulfato de cobalto (0,016%); Iodato de potássio (0,017) e Selenito de Sódio (0,026 %).
Adaptada de Teixeira (2005).

Tabela 2 - Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), N insolúvel em detergente neutro (NIDN), N insolúvel em detergente ácido (NIDA), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHO), fibra em detergente neutro (FDN), FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não fibrosos (CNF), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) da silagem de milho, do concentrado e da dieta experimental

Itens	S.Milho	Concentrado	Dieta
MS	33,65	88,63	49,60
MO ¹	84,82	92,04	86,91
PB ¹	5,70	28,33	12,26
NIDN ²	19,44	9,90	16,67
NIDA ²	13,52	4,02	10,76
EE ¹	1,87	2,71	2,11
CHO ¹	87,32	70,12	82,33
FDN ¹	54,69	22,48	45,35
FDNcp ¹	52,51	19,43	42,92
CNF ¹	34,81	50,69	39,42
FDA ¹	33,17	9,35	26,26
LIG ¹	7,25	2,96	6,00

¹ Valores em porcentagem da MS. ² Valores em porcentagem do nitrogênio total. Adaptada de Teixeira (2005).

Diariamente foram feitas pesagens das quantidades das dietas fornecidas e das sobras de cada animal para estimação do consumo de matéria seca. Durante o período experimental, foram feitas amostragens das dietas e sobras que foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas para posterior análise de MS. Essas amostras foram misturadas e feita uma amostra composta por animal.

O processamento das amostras para análise dos nutrientes foi feito segundo Silva & Queiroz (2002). Os detalhes da avaliação dos alimentos e dietas podem ser verificados em Teixeira (2005). Como os animais já estavam adaptados à dieta, o período experimental teve duração igual ao de coletas (seis dias).

As coletas totais de urina foram feitas durante seis dias consecutivos. Os animais foram pesados no início e no final do período experimental.

A urina foi coletada utilizando-se cateteres de Folley nº 22 ou 26, duas vias, com balão de 30 e 60 mL, respectivamente, de acordo com o tamanho das novilhas. Na extremidade livre da sonda foi adaptada mangueira de polietileno,

pela qual a urina foi conduzida até recipientes de plástico com tampa, contendo 500 mL de ácido sulfúrico a 20%. Ao término de cada período de 24 h de coleta, foi determinado o peso total excretado. Posteriormente, o conteúdo do galão foi homogeneizado e então, coletadas amostras de 40 mL que foram centrifugadas a 5.000 rpm durante 10 minutos e diluídas com 160 mL de ácido sulfúrico 0,036N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purina urinários e precipitação do ácido úrico. Uma outra amostra de 200 mL de urina foi coletada sem proceder à diluição, para determinação dos teores de uréia e creatinina. Devidamente identificadas, as amostras foram armazenadas a -15°C para posteriores análises laboratoriais.

Quatro horas após o fornecimento da ração, no terceiro dia da coleta total, realizou-se a coleta de sangue via punção da veia jugular, utilizando-se heparina como anticoagulante. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos para separação do plasma, que foi em seguida identificado e armazenado a -15°C.

A avaliação da uréia na urina e no plasma foi realizada segundo o método diacetil modificado (kits comerciais). A estimativa da concentração de creatinina na urina e no plasma, foi realizada usando-se kits comerciais (Labtest), pelo método de ponto final, com utilização de picrato e acidificante.

A concentração de N uréico no plasma (NUP) e na urina (NUU) foi obtida por meio do produto da concentração da uréia, multiplicada por 0,466 correspondente ao teor de N na uréia.

Nas amostras de urina diluída foram realizadas as análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção de derivados de purinas (DP) na urina em 24 horas foi calculada multiplicando-se o volume urinário em 24 horas pela concentração dos DP na amostra de urina da coleta total.

As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$DP = 0,85 \cdot P_{abs} + 0,385 \cdot PV^{0,75},$$

em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 PV^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al., 1990).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (N_{mic} , g N/dia) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (P_{abs} , mmol/dia), utilizando-se a equação:

$$N_{mic} = (70 \cdot P_{abs}) / (0,83 \cdot 0,116 \cdot 1000),$$

em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol), 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 a relação N purina: N total dos microrganismos ruminais (Chen & Gomes, 1992).

O experimento foi conduzido, considerando-se o grupo de animais como uma amostra aleatória simples da população. Para comparação entre dias de coletas, empregou-se análise de variância como ferramenta para isolamento do erro puro, adotando-se modelo constituído pelo efeito aleatório de animal e pelo efeito fixo de dia de avaliação. As médias obtidas para dias foram agrupadas por intermédio do procedimento de Scott-Knott. Para todos os procedimentos estatísticos adotou-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

Estão apresentadas na Tabela 3 as excreções de creatinina, expressas em mg/kgPV, $mg/kg^{0,75}$ ou $mmol/kg^{0,75}$ em diferentes dias de coleta total de urina. Não houve diferença na excreção de creatinina ($P > 0,05$) entre os dias de coleta. O mesmo comportamento foi observado por Leal et al. (s.d.), avaliando os mesmos tempos de coleta de urina em novilhos castrados de origem Holandêsa. Valadares et al. (1997a), avaliando a coleta de urina em vacas, utilizando sondas idênticas às utilizadas no presente experimento, não verificaram diferenças na excreção de creatinina, expressa em g/h, g/24h, $mg/h/kg^{0,75}$ e $mg/24h/kg^{0,75}$, determinada através dos tempos de coleta de 12, 24, 48 e 72 horas. Todavia houve menor

excreção para a coleta de 96 horas, a qual foi atribuída a problemas relacionados com o uso de sondas. Sendo assim, recomendaram a utilização da coleta total de 24 horas para estimar a excreção urinária diária.

Tabela 3 – Médias e coeficientes de variação (CV%) obtidas para a excreção de creatinina (EC) em função dos dias de coleta de urina

EC ¹	Dias						Média Geral	CV
	1	2	3	4	5	6		
mg/kgPV	31,38	33,11	31,09	28,03	28,0	30,5	30,56	8,35
mg/kg ^{0,75}	128,7	135,54	127,8	115,04	115,14	124,84	124,81	8,25
mmol/kg ^{0,75}	1,14	1,20	1,13	1,02	1,02	1,10	1,10	8,25

¹ – Efeito relativo a dias de coletas não-significativo pelo teste de Scott-Knott (P > 0,05).

A ausência de diferença significativa em tempos menores de coleta para excreção de creatinina foi observada por Fleming et al. (1991), que avaliaram coletas de 6, 12, 18 e 24 horas em vacas adultas pesando entre 427 e 622 kg. Em uma pesquisa com os mesmos tempos de coleta, Chizzotti (2004) não encontrou diferença na excreção de creatinina expressas em mg/kgPV, mg/kg^{0,75}, mmol/kg^{0,75}, g/h ou g/24h. Nsahlai et al. (2000) coletaram amostra *spot* de urina em três períodos distintos (08:00-9:30; 14:00-15:30 e 20:00-21:30 h) durante seis dias de coleta e não verificaram influência do horário de coleta sobre as concentrações de creatinina e de DP na urina.

A excreção média de creatinina encontrada por Rennó et al. (2000), em quatro experimentos distintos, com novilhos com peso médio de 283 kg, foi de 27,36 mg/kgPV ou 112,22 mg/kgPV^{0,75}. Chizzotti et al. (2004), avaliaram o efeito de diferentes proporções da casca de algodão e silagem de capim elefante na dieta de novilhos com peso médio de 259 kg, encontraram valores médios de excreção de creatinina de 27,99 mg/kgPV ou 110,86 mg/kgPV^{0,75}. Esses valores foram aproximadamente 10% inferiores ao encontrado neste experimento, em que

o peso médio das novilhas foram de 280 kg e a excreção média de 30,56 mg/kgPV ou 124,81 mg/kgPV^{0,75}. Entretanto, outros autores têm obtido valores ainda menores para animais adultos, a exemplo de 24,26 mg/kgPV (Valadares et al., 1997b) e de 23,41 (Oliveira et al. 2001) em trabalhos com vacas mestiças Holandês x Zebu. Esta diferença deve estar associada às variações na proporção de tecidos de animais em crescimento. Conforme já discutido, a creatinina é oriunda do metabolismo protéico do tecido muscular e excretada proporcionalmente à quantidade deste tecido no animal.

Simpfendorfer (1974), citado pelo NRC (2001), sumarizou dados relativos à composição corporal de bovinos do nascimento à maturidade e encontrou que 96 a 99% da variação na composição química estava associada a diferenças de peso de bovinos com tamanhos à maturidade semelhantes. Segundo o NRC (1996), se um animal é alimentado com dieta que contém energia adequada, a porcentagem de proteína diminui e a de gordura aumenta no corpo vazio, à medida que seu peso se aproxima do peso à maturidade. Desta forma, em animais em crescimento, a porcentagem de tecido muscular varia de acordo com o peso animal, conseqüentemente, a excreção de creatinina em mg/kg de peso pode ser alterada. Animais adultos possuem menor variação na composição corporal e portanto a excreção de creatinina em função do peso vivo torna-se menos variável.

Em um estudo com 22 novilhas com pesos diferentes, Chizzotti et al. (2004) observaram que, quando expressa em função do peso vivo ou do peso metabólico, a excreção de creatinina aumentou linearmente com a diminuição do peso das novilhas. A excreção de creatinina variou entre 26,43 e 30,53 mg/kgPV para os pesos médios de 523 e 118 kg, respectivamente, dessa forma recomendaram a seguinte equação para estimar a excreção diária individual em função do peso vivo em kg: $EC \text{ (mg/kgPV/dia)} = 32,27 - 0,01093 \cdot PV$ ($r^2=0,70$). Convertendo os dados do presente experimento em função desta equação, o valor estimado seria de 29,21 mg/kgPV, próximo ao observado.

A ausência de efeito de dias de coleta sobre a excreção de creatinina pode reduzir o trabalho com tempos longos de coletas, além de permitir a redução nos

custos da pesquisa. É importante ressaltar, que o uso prolongado de sondas para coletas de urina pode causar desconforto e aumentar o risco de infecções urogenitais.

Na Tabela 4 estão apresentadas as médias e coeficientes de variação para as excreções urinárias de alantoína, ácido úrico, derivados de purinas totais, as purinas absorvidas e estimativas de síntese dos compostos nitrogenados microbianos, em função dos dias de coleta.

Tabela 4 – Médias e coeficientes de variação (CV%) para as excreções urinárias de alantoína (ALA), ácido úrico (AcU), derivados de purinas (DP), purinas absorvidas (Pabs) e estimativas da síntese de compostos nitrogenados microbianos (Nmic) em função dos dias de coleta

Itens ¹	Dias						Média Geral	CV
	1	2	3	4	5	6		
ALA ²	163,38	160,98	177,29	140,31	151,96	163,79	160,27	16,82
AcU ²	13,53	15,47	9,34	35,17	16,76	16,35	17,68	125,38
DP ²	177,09	176,3	195,2	171,36	168,12	180,74	177,91	10,08
Pabs ²	177,1	176,0	199,0	165,57	165,55	180,53	176,8	12,26
Nmic ³	129,56	128,21	147,0	108,89	118,6	129,84	126,8	17,09

¹ – Efeito relativo a dias de coletas não-significativo pelo teste de Scott-Knott (P> 0,05).

² – mmol/dia; ³ – g/dia.

As excreções de alantoína e de derivados de purinas não foram afetadas (P>0,05) pelos dias de coleta. Esse comportamento foi semelhante ao apresentado para as purinas microbianas absorvidas e para a síntese de compostos nitrogenados microbianos.

A excreção de alantoína é encontrada em maior proporção, em torno de 85% dos derivados de purinas (Verbic et al., 1990). No presente trabalho, a proporção de alantoína em relação às purinas totais foi de 90,1%, próximos aos

valores médios de 91,70, 91,75 e 92,75% encontrados por Rennó (2003), Chizzotti et al. (2004) e Devant et al. (2000), respectivamente. No presente trabalho não foi avaliada a excreção de xantina e hipoxantina, pois estas não estão presentes em quantidades significativas na urina de bovinos (Chen & Gomes, 1992).

Teixeira (2005) avaliou o efeito da substituição da silagem de milho pela casca de café em níveis crescentes (0,0; 7,0; 14,0 e 21,0% na MS) utilizando 24 novilhas com peso inicial médio de 180 kg. Para as novilhas que foram alimentadas de forma semelhante ao do presente trabalho, ou seja, 0% de casca de café, a proporção de alantoína foi de 89,65% em relação aos DP, cuja excreção foi de 129,02 mmol/dia, aproximadamente 27% inferior ao encontrado no presente trabalho que foi de 177,91 mmol/dia. Essa diferença pode ser explicada em virtude de os animais dessa pesquisa terem consumido maior quantidade de matéria seca (6,74 X 5,88 kg/dia). O mesmo aumento foi observado por Chizzotti (2004) para novilhas com diferentes pesos, observando-se que os animais que consumiram mais nutrientes apresentaram maior síntese de compostos nitrogenados microbianos. De acordo com Van Soest (1994), aumentos na ingestão proporcionam maior escape de microrganismos para o duodeno.

A eficiência microbiana foi em média 186,03 g de PBmic/kg de NDT, considerando que o teor de NDT da dieta seria de 63,25 em percentagem da matéria seca (Teixeira, 2005). Valor 19,2% menor foi encontrado por Teixeira (2005) de 150,25 g de PBmic/kg de NDT para o mesmo tratamento.

Na Tabela 5 são apresentadas as médias e os coeficientes de variação para as excreções diárias de uréia (EUU) e N uréico (NUU), em função dos dias de coleta da urina. Os tempos de coleta não influenciaram ($P>0,05$) as excreções de uréia, portanto coletas de 24 horas de duração permitem, de uma forma geral, a obtenção de amostras representativas da condição animal para as variáveis estudadas no presente experimento.

Tabela 5 – Médias e coeficientes de variação (CV%) para as excreções de uréia na urina (EUU) e N-uréia na urina (NUU) em função dos dias de tratamento

Item ¹	Dias						Média Geral	CV
	1	2	3	4	5	6		
EUU (g/dia)	46,4	44,5	42,8	50,9	41,0	49,7	45,4	27,6
NUU (g/dia)	21,6	20,7	19,9	23,7	19,1	23,2	21,2	27,6
EUU (mg/kgPV)	175,0	156,5	151,5	133,6	131,9	166,6	148,1	23,3
NUU ((mg/kgPV)	81,6	72,9	70,6	62,2	61,5	77,6	69,0	23,3

¹ – Efeito relativo a dias de coletas não-significativo pelo teste de Scott-Knott (P> 0,05).

Os valores médios encontrados para EUU e NUU expressos em g/dia estão próximos aos encontrados por Teixeira (2005) que descreve uma excreção urinária de 42,59 e 19,85 g/dia para EUU e NUU, respectivamente, em novilhas submetidas ao mesmo tratamento do presente trabalho. Valadares et al. (1997b) obtiveram uma excreção urinária de 58,83 e 27,41 g/dia para EUU e NUU, em zebuínos recebendo dietas com 12% de PB. Devant et al. (2000), em estudo com novilhas alimentadas com rações que continham 14% de proteína, observaram que a excreção de NUU foi de aproximadamente 21,65 g/dia. Chizzotti (2004), trabalhando com novilhas leiteiras de peso diferentes, encontrou uma excreção urinária de uréia e de N uréico de 48,69 e 32,40 g/dia, respectivamente, para animais com peso de 315 kg, consumindo silagem de milho e concentrado com 25,45 % de PB.

Na Tabela 6 são apresentadas as médias e coeficientes de variação para as concentrações de uréia no plasma (UP) e N-uréia no plasma (NUP). A concentração média de NUP de 9,12 mg/dL foi próxima ao valor de 9,66 mg/dL encontrado por Teixeira (2005), utilizando 24 novilhas submetidas ao mesmo tratamento. Valadares et al. (1997b), em estudo conduzido com novilhos alimentados com dietas contendo 7,0; 9,5; 12,0 e 14,5% de PB relataram níveis de NUP 8,1; 9,1; 15,7 e 19,5 mg/dL, respectivamente. Chizzotti (2004) observou uma

variação na concentração de N uréico no soro de 4,08 a 13,89 mg/dL em novilhas com pesos médios de 523 e 118 kg, respectivamente. Elrod & Butler (1993) observaram que valores de NUP acima de 9,9 mg/dL estavam relacionados com menor fertilidade em novilhas.

Tabela 6 – Média geral e coeficientes de variação (CV%) obtido para o nível de uréia no plasma (UP) e N-uréia no plasma (NUP)

Item	Média Geral	CV
UP (mg/dL)	19,58	26,74
NUP (mg/dL)	9,12	26,74

Conclusões

A ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem uma grande aplicação prática, pois além de reduzir o trabalho com tempos longos de coletas, permite a redução nos custos da pesquisa.

Não há necessidade de utilizar períodos longos de coletas de urina. Sugere-se que essas coletas sejam efetuadas durante 24 horas.

A excreção de creatinina foi em média 30,5 mg/kgPV; 124,84 mg/kg^{0,75} ou 1,1 mmol/kg^{0,75}, em novilhas com aproximadamente 280 kg.

Literatura Citada

- 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 (Occasional publication). INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute. 21 p. 1992.
- CHIZZOTTI, M. L. **Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras.** Viçosa: Universidade Federal de

- Viçosa, 2004. 132p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. et al. Excreção de creatinina em novilhos e novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 2004, CD Rom. Nutrição de Ruminantes.
- COTO, G.; RODRIGUES, M.M; INFANTE, F.P. et al. The effect of increasing consumption of concentrates, creatinine, creatine and allantoin in the urine of rams fed hay. **Cuban Journal Agricultural Science**, v.22, n.2, p.279-274, 1988.
- CRUZ SOTO, R.; MUHAMMED, S.A.; NEWBOLD, C.J. et al. Influence of peptides, amino acids and urea on microbial activity in the rumen of sheep receiving grass hay and on growth of rumen bacteria *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, v.49, n.1-2, p.151-161, 1994.
- DEVANT, M.; FERRET, A.; GASA, J. et al. Effects of protein concentration and degradability on performance, ruminal fermentation, and nitrogen metabolism in rapidly growing heifers fed high-concentrate diets from 100 to 230 kg body weight. **Journal of Animal Science**, v.78, p.1667-1676, 2000.
- ELRODE, C.C. & BUTLER, W.R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. **Journal Animal Science**, v.71, p. 694-701, 1993.
- FLEMING, S.A.; HUNT, E.L.; RIVIERE, J.E. et al. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.1, p. 5-8, 1991.
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de Química Fisiológica**. 5° ed. São Paulo: Atheneu. 1982. 736p.
- HENNESSY, D.W.; KOHUN, P.J.; WILLIAMSON, P.J. et al. The effect of nitrogen and protein supplementation on feed intake, growth and digestive function of steers with different *Bos indicus*, *Bos taurus* genotypes when fed a low quality grass hay. **Australian Journal Agricultural Research**, v.46, n.6, p.1121-1236, 1995.
- KOREN, A. Creatinine – urine. Medical encyclopedia. 2000. www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003610.htm. (18/11/2003).
- KRISHNA MOHAN, D.V.G.; RANJHAN, S.K. Growth nitrogen balance and nutrient intake in crossbred heifer calves fed different levels of energy and protein. **Ind. Journal Animal Science**, v.52, n.8, p. 638-642, 1982.

- LEAL, T.L.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, s.d. (submetido).
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.:National Academy, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7. ed.National Academic Press. Washinton, D.C.: 2001. 381p.
- NSAHLAI, I.V.; OSUJI, P.O.; UMUNNA, N.N. Effect of form and of quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary *spot* samples, daily microbial N supply and predictability of intake. **Animal Feed Science and Technology**, v.85, p.223-238, 2000.
- OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Produção de proteína microbiana e estimativa das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORSKOV, E. R.; MACLEOD, N.A. The determination of the minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and its physiological and practical implications. **British Journal Nutrition**, v.47, n.3, p. 625-636, 1982.
- RENNÓ, L. N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhas alimentadas com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 252p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federa;de Viçosa, 2003.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Estimativas da excreção urinária de derivados de purinas e da produção de proteína microbiana em novilhos alimentados com níveis crescentes de uréia na ração. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife, 2002, CD Rom. Nutrição de Ruminantes.
- SIDDONS, R.C.; NOLAN, J.V.; BEEVER, D.E. et al. Nitrogen digestion and metabolism in seep consuming diets containing contrasting forms and levels of. **British Journal Nutrition**, v. 54, n.1, p. 175-187, 1985.
- SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa, MG, UFV, Imprensa Universitária, 2002, 235p.
- SUSMEL, P.; SAPANGHERO, M.; STEFANON, B. et al. Digestibility and allantion excretion in cows fed diets containing in nitrogen content. **Livestock Production Science**, v.39, n.1, p. 97-99, 1994a.

- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E. et al. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-266, 1994b.
- TEIXEIRA, R.M.A. **Desempenho, síntese de proteína microbiana e comportamento ingestivo de novilhas leiteiras alimentadas com casca de café em substituição à silagem de milho**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 55p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Departamento de Engenharia Agrícola. Estação Meteorológica**. Viçosa: 2002. n. p.
- VAGNONI, D.B.; BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. et al. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997a.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M. 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.26, n.6, p. 1270-1278, 1997b.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de dois experimentos, sendo um conduzido no laboratório animal do Departamento de Zootecnia (DZO) e o outro foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL), da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG .

No primeiro foram utilizados quatro animais, machos castrados, de grau de sangue predominantemente Holandês com peso inicial médio de 445 kg, objetivando-se estimar as variações nas excreções diárias de creatinina, uréia e de derivados de purinas na urina, utilizando coletas durante seis dias consecutivos; e avaliar as concentrações de nitrogênio uréico no plasma (NUP) em novilhos submetidos a dietas que continham dois níveis de concentrado e duas fontes de proteína. Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 4X4, sendo os tratamentos definidos em esquema fatorial 2X2, sendo dois níveis de uréia (0 e 100%) em substituição ao farelo de soja e dois níveis de oferta de concentrado (0,75% e 1,25% do PV), e a comparação entre dias de avaliação foi conduzida em esquema de parcelas subdivididas . O volumoso, constituído de silagem de capim elefante (80%) e silagem de sorgo (20%), foi fornecido à vontade. As coletas de urina foram feitas durante seis dias consecutivos, utilizando-se funis coletores adaptados aos animais. A síntese de compostos nitrogenados microbianos foi maior ($P < 0,05$) para a maior oferta de concentrado e menor ($P < 0,05$), quando a proteína do farelo de soja foi substituída pela uréia. Não houve interação ($P > 0,05$) entre níveis de concentrado e de uréia para a concentração de NUP e a excreção de N-uréico na urina, nem efeito ($P > 0,05$) de níveis de uréia. As excreções urinárias de creatinina, uréia, alantoína, ácido úrico e derivados de purinas totais não foram afetadas ($P > 0,05$) pelos dias de coleta de urina. Da mesma forma, a quantidade estimada de proteína microbiana não diferiu ($P > 0,05$) entre os dias de coleta de urina.

No segundo experimento, objetivou-se avaliar as variações nas excreções diárias de creatinina e de uréia na urina, utilizando coletas durante seis dias consecutivos em novilhas de origem leiteira; avaliou-se também o efeito da

duração do período de coleta sobre a estimativa da produção microbiana obtida a partir dos derivados de purinas na urina. Utilizaram-se onze novilhas de grau de sangue predominantemente Holandês, com peso inicial médio de 280 kg, considerando-se o grupo de animais como uma amostra aleatória simples da população. Para comparação entre dias de coletas, empregou-se análise de variância como ferramenta para isolamento do erro puro, adotando-se modelo constituído pelo efeito aleatório de animal e pelo efeito fixo de dia de avaliação. O volumoso foi constituído de silagem de milho fornecida à vontade. Diariamente foi fornecido 2,0 kg de concentrado por animal. O período experimental teve duração de seis dias, pois os animais já estavam adaptados à dieta. As coletas de urina foram realizadas utilizando-se sondas de Folley nº 22 ou 26, sendo determinado o volume urinário diário. As excreções urinárias de creatinina, uréia, alantoína, ácido úrico e derivados de purinas totais também não foram afetadas ($P>0,05$) pelos dias de coleta de urina. Da mesma forma a quantidade estimada de proteína microbiana não diferiu ($P>0,05$) entre os dias de coleta de urina.

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A ausência de efeito de número de dias sobre a excreção de creatinina tem uma grande aplicação prática, pois além de reduzir o trabalho com tempos longos de coletas, permite a redução nos custos da pesquisa.
- A duração das coletas de urina não influencia a excreção de creatinina e a estimativa da produção microbiana através dos derivados de purina;
- Amostras representativas de urina podem ser obtidas através de coletas de 24 horas de duração;
- A excreção de creatinina foi em média 25,47 mg/kgPV, 117,92 mg/kg^{0,75} ou 1,04 mmol/kg^{0,75}, em bovinos com aproximadamente 450 kg de peso vivo;
- A excreção de creatinina foi em média 30,5 mg/kgPV; 124,84 mg/kg^{0,75} ou 1,1 mmol/kg^{0,75}, em novilhas com aproximadamente 280 kg.