

JERCYANE MARIA DA SILVA BRAGA

**ESTIMATIVA DA EXCREÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE
PURINAS A PARTIR DO CONSUMO DE NDT E DETERMINAÇÃO DA
CONTRIBUIÇÃO ENDÓGENA EM BOVINOS DE CORTE**

Dissertação 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

2011

JERCYANE MARIA DA SILVA BRAGA

**ESTIMATIVA DA EXCREÇÃO URINÁRIA DE DERIVADOS DE
PURINAS A PARTIR DO CONSUMO DE NDT E DETERMINAÇÃO DA
CONTRIBUIÇÃO ENDÓGENA EM BOVINOS DE CORTE**

Dissertação 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*

APROVADA: 11 de março de 2011.

Prof.: Mário Fonseca Paulino

Prof.: Douglas Santos Pina

Prof.: Sebastião de Campos Valadares Filho
(Coorientador)

Prof^ª.: Rilene Ferreira Diniz Valadares
(Orientadora)

“Confie na sua mente.

A sua mente tem a finalidade de fazer você feliz.”

(Autor desconhecido)

“Tudo posso naquele que me fortalece.”

Filipenses 4:13

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me deu forças e capacidade de vencer essa etapa, dando-me oportunidade da realização de mais essa conquista.

Em seguida a minha mãe que sempre me incentivou e me deu apoio em todos os momentos difíceis, e ao meu pai que infelizmente não se faz mais presente entre nós, mas me deu uma excelente formação pessoal.

A minha irmã Viviane e ao meu cunhado Robert pelo incentivo e pelas palavras de carinho.

Ao meu querido namorado Antônio, pela paciência e pela compreensão dos momentos ausentes.

A minha tia Meire, que foi a minha substituta oficial, me dando tranquilidade de seguir em frente.

Aos meus familiares e amigos pelo apoio.

A UFV, pela aceitação e ao CNPq e ao INCT de Ciência Animal pelo financiamento do projeto e pela concessão da bolsa.

Ao Departamento de Medicina veterinária pela oportunidade e ao Departamento de Zootecnia, pelo desenvolvimento do experimento.

A professora Rilene, pelos conselhos, pela oportunidade, pela orientação e compreensão em um dos momentos mais delicados da minha vida, pelos ensinamentos passados no decorrer do curso contribuindo para a minha formação profissional e pessoal.

Ao professor Sebastião, pelos ensinamentos e pela contribuição desse projeto.

Ao Douglas, pela paciência, caronas e ensinamentos estatísticos.

Ao professor Mário Paulino, pela colaboração e participação na banca de defesa da dissertação.

As meninas da república (Canárias), em especial a Mirlaine, minha irmã de coração, pelo companheirismo, amizade, carinho, solidariedade e paciência pelas vezes que eu fiz barulho de madrugada. Ao Lucas, pelas brincadeiras, caronas, conversas sendo um (canário) oficial da república.

A minha companheira de luta Samantha, uma verdadeira irmã que eu ganhei nessa caminhada, obrigada pela amizade, conversas, conselhos, risadas, que foram essenciais nos dias difíceis e por ter assumido o meu experimento num período muito difícil na minha vida; momentos vividos que ficarão guardados para sempre na memória e no coração.

A Nilzilene, pela amizade e pela acolhida em sua casa.

Ao Sr. Divino, Sr. Wellington, Sr. Joelcio, Sr. Monteiro, Sr. Raimundo, Plínio, Pum, Sr. Jorge, Sr. Mário por terem sido tão prestativos quando acionados.

A Virginia pela prestatividade.

A equipe do Laboratório do Professor Sebastião, Laura, Bruna, Zana (Ráááá), Lays, Polyana, Faider, Marcelo (Lenda), Pitoco, Danilo, Paloma, Caio, Tadeu, Cadu, Douglas, João, Silêncio, Dida, Luciana, Stefanie em especial ao Luis, por todas as vezes que me ajudou a educar as novilhas levando - as no tronco. Ao Pablyo, que ao longo do tempo se tornou o meu irmão mais novo.

A Isis, Fabiana, Carla, Lisa, Renata, Leonardo que foram essenciais para o entendimento das disciplinas. A Isabel, auxiliando nos períodos de coleta. A Marli pelo empréstimo do macacão. Eriton nas primeiras análises de alantóina,

As secretárias da pós graduação Rosi e a Bete, pelo carinho e preocupação, sempre lembrando os prazos das matriculas.

Ao Sr. Adilson, pelas conversas e pelos e-mails carinhosos e incentivadores.

Ao pessoal do escritório que mesmo distante estão sempre presentes, através de e-mails.

Ao meu professor Ely, que sempre me incentivou a buscar novas experiências.

A Georgina coordenadora do Curso de Ciências Biológicas, pelo apoio.

Enfim, a todos que contribuíram direta e indiretamente para realização desse sonho e aos amigos e familiares que apesar de não mencionados certamente colaboraram.

Obrigada!!!

BIOGRAFIA

JERCYANE MARIA DA SILVA BRAGA, filha de Jercey de Lima Braga (in memorian - sempre presente) e Clébia Fátima Silva Braga, nasceu na cidade de Cataguases, estado de Minas Gerais, em 08 de maio de 1985.

Em, 2003 iniciou o curso de Ciências Biológicas, nas Faculdades Integradas de Cataguases-FIC , colando grau em dezembro de 2006.

Em março de 2009, ingressou no Programa de Pós Graduação na Universidade Federal de Viçosa, no Departamento de Medicina Veterinária, em nível de mestrado, com ênfase em fisiologia e nutrição, submetendo- se a defesa de dissertação em 11 de março de 2011.

CONTEÚDO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	4
Estimativa da excreção urinária de derivados de purinas a partir do consumo de NDT e determinação da contribuição endógena em bovinos de corte.....	7
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO.....	9
MATERIAL E MÉTODOS.....	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
CONCLUSÕES.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

RESUMO

BRAGA, Jercyane Maria da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2011. **Estimativa da excreção urinária de derivados de purinas a partir do consumo de NDT e determinação da contribuição endógena em bovinos de corte.** Orientadora: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Coorientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Mário Fonseca Paulino

Foram desenvolvidos dois experimentos com oito novilhas nelore com peso corporal (PC) inicial de 267 ± 17 kg com os objetivos de estimar a excreção de derivados de purinas (DP) a partir do consumo de NDT, avaliar os consumos e as digestibilidades dos nutrientes e estimar as perdas endógenas de derivados de purinas e de compostos nitrogenados usando a técnica do jejum. No primeiro experimento, os animais foram alimentados com dieta à base de silagem de milho e concentrado nas proporções de 70 e 30% na MS. Os tratamentos foram constituídos de diferentes níveis de oferecimento da dieta: 1,0, 1,4, 1,8, 2,2% (PC), sendo que os animais foram distribuídos em 2 quadrados latinos 4x 4 balanceados para efeito residual. Os quatro períodos experimentais tiveram duração de 14 dias, sendo os dez primeiros dias para adaptação, e quatro dias para as coletas totais de fezes e de urina. Os consumos de MS (CMS) variaram de 1,0 a 2,1% do PC. Houve redução ($P < 0,05$) nas digestibilidades de todos os nutrientes, com exceção do extrato etéreo, com o aumento do CMS. A excreção de DP aumentou linearmente ($P < 0,05$) com o aumento do CMS. As purinas absorvidas, os compostos nitrogenados microbianos e o balanço de compostos nitrogenados também apresentaram comportamento linear crescente ($P < 0,05$) em relação ao CMS. Quando a excreção de derivados de purinas (mmoldia) foi relacionada com a ingestão de matéria orgânica digestível (MOD) em kg/dia, obteve-se a equação: $\hat{Y}_{DP} = 32,98 + 21,94 * MOD$ ($r^2 = 0,44$), enquanto quando foi relacionada com a ingestão de NDT (kg/dia), observou-se a equação $\hat{Y}_{DP} = 32,47 + 20,40 * NDT$ ($r^2 = 0,44$). A relação entre a excreção de DP (mmol/ kgPC^{0,75}) e o CMS (g/kgPC^{0,75}) resultou na regressão: $\hat{Y}_{DP} = 0,605 + 0,014x$ ($r^2 = 0,46$), sendo

considerado $0,605 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$ a fração endógena de DP. No segundo experimento, com duração de 16 dias, todos os animais foram submetidos à restrição alimentar, sendo a alimentação restrita a 1% do PC em MS nos oito primeiros dias, restrita a 0,5% do PC do nono ao 11º dia e em jejum do 12º dia ao 16º dia, com acesso livre a água, sendo a média dos dois últimos dias utilizada para estimar as perdas endógenas de DP e de compostos nitrogenados. A fração endógena dos DP obtida em jejum foi de $0,332 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$, enquanto estimou-se valor de $0,384 \text{ g de N/kgPC}^{0,75}$ para as perdas endógenas de compostos nitrogenados, ou seja, uma exigência líquida de proteína para manutenção de $2,4 \text{ g/kgPC}^{0,75}$. Conclui-se que há redução de aproximadamente 5% no teor de NDT, quando o consumo passa de restrito para voluntário, que a excreção urinária de DP pode ser estimada a partir da ingestão de NDT e de MOD que nos animais em jejum a contribuição endógena de derivados de purina é estimada em $0,332 \pm 0,063 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$, enquanto a de compostos nitrogenados é de $0,384 \text{ g de N/kgPC}^{0,75}$ e que a excreção de creatinina não é afetada pela restrição alimentar.

ABSTRACT

BRAGA, Jercyane Maria da Silva, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, March 2011. **Estimation of urinary excretion of purines derivatives from TDN intake and determination of the endogenous contribution in beef cattle.** Adviser: Rilene Ferreira Diniz Valadares, Co-adviser: Sebastião de Campos Valadares Filho and Mário Fonseca Paulino

Two experiments were conducted with eight Nelore heifers (BW 267 ± 17 kg) to assess the excretion of purine derivatives (PD) from intake of TND, the intake and digestibilities of nutrients and the endogenous fraction of PD and nitrogen losses using the technique of fasting. In Exp.I the animal were fed a diet based on corn silage and concentrate in the proportions of 70 and 30% of dry matter (DM). The planned treatments were 4 different DMI: 1.0, 1.4, 1.8 and 2.2 % of BW (DM basis). The animals were allocated to two 4 x 4 Latin squares balanced for residual effect. The four experimental periods lasted for 14 d each. During the first 10 days, the animals were allowed to adapt to the level of ingestion. From d 11 to 14, the collection of feces and urine were performed. Dry matter intake (DMI) range was from 1.0 to 2.1% of BW. Total tract apparent digestibilities of all nutrients except ether extract decrease ($P < 0.05$) with increase of DMI. The excretion of PD increased linearly ($P < 0.05$) with the increase of DMI. Absorbed purines, microbial nitrogen compounds and the balance of nitrogenous compounds also linearly increased ($P < 0.05$) with the increase of DMI. The excretion of purine derivatives (mmoldia) was a function of intake of digestible organic matter (DOM) in kg/d: $\hat{Y}_{DP} = 32.98 + 21.94 * MOD$ ($r^2 = 0.44$). The PD excretion (mmol/d) was a function of TDN intake (kg/d): $\hat{Y}_{DP} = 32.47 + 20.40 * TDN$. The relationship between PD excretion (mmol/kgPC^{0.75}) and CMS (g/kgPC^{0.75}) resulted in the regression: $\hat{Y}_{DP} = 0.605 + 0.014 x$ ($r^2 = 0.46$), where 0,605 mmol/kgPC^{0.75} was the endogenous losses of PD. The Exp. II lasted for 16 d, in which all animals were subjected to dietary restriction. During the first eight days the feed was supplied at 1% of the BW (DM basis) and during the ninth to 11th day the feed was supplied at 0.5% BW. During the 12th to 16th day the animals were fasted, with free access to water. The mean excretions of PD and nitrogen compounds in the last two days were used to estimate the respective

endogenous losses. The endogenous losses of PD and nitrogen compounds were $0.332 \text{ mmol/kgBW}^{0.75}$ and $0.384 \text{ gN/kgBW}^{0.75}$, respectively. Consequently, a net protein requirement for maintenance of $2.4 \text{ g/kgBW}^{0.75}$ was estimated. In conclusion, there is a reduction of approximately 5% in TDN, when intake range is restricted to voluntary; it is possible the estimation of urinary excretion of PD from intake of TDN and MOD; the endogenous losses of PD is $0.332 \pm 0.063 \text{ mmol/kgBW}^{0.75}$, and the endogenous nitrogen is $0.384 \text{ gN/kgBW}^{0.75}$. Additionally, creatinine excretion is not affected by food restriction.

INTRODUÇÃO

Nos ruminantes, as exigências dietéticas de proteína metabolizável são atendidas mediante a absorção no intestino delgado da proteína microbiana e da proteína dietética não degradada no rúmen (NRC, 1996).

A proteína microbiana sintetizada no rúmen pode fornecer de 40 a 80% dos aminoácidos requeridos pelos ruminantes, uma vez que a maioria dos aminoácidos absorvidos no intestino delgado é proveniente da proteína microbiana (Sniffen & Robison, 1987).

Portanto, quantificar a síntese proteína microbiana no rúmen tem sido muito importante na área de nutrição dos ruminantes (Broderick & Merchen, 1992) e existem vários métodos para estimar a produção dos compostos nitrogenados microbianos, dentre eles os indicadores internos: bases purinas e ácido 2,6 diaminopimélico (DAPA) - e externos como ^{15}N e ^{35}S ; contudo, para a utilização destas técnicas é necessário que os animais estejam cirurgicamente adaptados com fistulas, em diferentes partes do trato gastrointestinal, o que as torna invasivas (Susmel et al., 1994). Dessa forma, cresce o interesse para desenvolver técnicas não-invasivas, como a excreção urinária de derivados de purina (DP), considerado um método rápido e prático.

Após digestão intestinal e absorção dos nucleotídeos de purinas, as bases purinas são catabolizadas e excretadas proporcionalmente na urina como DP, principalmente alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (Chen & Gomes, 1992; Perez et al., 1996)

Em bovinos devido à alta atividade da enzima xantina oxidase presentes no sangue e nos tecidos, os derivados hipoxantina e xantina são encontradas em proporções mínimas devido à conversão antes da excreção a ácido úrico. Assim, as excreções de alantoína e ácido úrico representam em média 98% dos derivados de purina, de acordo com Chen & Gomes (1992).

Nos tecidos dos animais, acontece processo contínuo no qual os nucleotídeos são quebrados, ocorrendo a re-síntese a partir da “síntese do novo” das purinas ou são reutilizados como purinas pré-formadas. Durante esse processo, uma pequena proporção das purinas recicladas é decomposta em

hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína, que são excretados na urina; essa fração de DP originária do tecido animal é chamada de fração endógena (Chen & Orskov, 2003).

Os DP urinários originam-se de duas fontes, as purinas absorvidas no intestino e as purinas endógenas, liberadas do metabolismo dos ácidos nucleicos. Desse modo, a relação N-purinas : N- total da massa microbiana pode ser utilizada somente se a excreção endógena e a relação quantitativa da excreção de derivados de purina e absorção de purina tenham sido previamente determinadas (Verbic et al., 1990; Chen & Gomes, 1992; Orellana Boero et al., 2001). Se o valor aplicado às perdas endógenas for inadequado, isto pode resultar em uma sub ou superestimação da proteína microbiana, considerando que as perdas endógenas são subtraídas da excreção total de purina para estimar a produção da proteína bruta microbiana.

A excreção endógena de DP já foi relatada em vários experimentos com diferentes valores, isso ocorre principalmente pelas diversas técnicas utilizadas e pelas possíveis variações no metabolismo dos ácidos nucleicos dos animais. Segundo Pimpa et al. (2001), a excreção de DP endógeno foi de 0,147 mmol/kgPC^{0,75}, a partir da infusão de quatro níveis de bases purinas no duodeno (10, 15, 30 e 45 mmol/dia) em bovinos Kedah-Kelantan (*Bos indicus*), extrapolando-se para o nível zero de ingestão, enquanto Osuji et al. (1996) relataram 0,170 mmol/kgPC^{0,75} em bovinos *Bos indicus* mantidos em jejum. Ojeda et al. (2005), trabalhando com animais *Bos indicus* x *Bos taurus* submetidos a jejum de 5 dias, encontraram valor de 0,277 mmol/kgPC^{0,75} para a excreção de DP endógeno. Essas diferenças de valores para excreção endógena de DP também foram obtidas em vacas lactantes, segundo Gonzalez-Ronquilo et al. (2003), observando-se valores variando de 0,259 a 0,530 mmol/kgPC^{0,75} de acordo com o estágio de lactação.

A excreção endógena de DP em novilhas Nelore foi relatada por Barbosa et al. (2011), utilizando duas técnicas; o valor de 0,242 mmol/kgPC^{0,75} foi obtido a partir da regressão $\hat{Y}_{DP} = 0,242 + 0,020x$ ($r^2 = 0,64$), relacionando a excreção de DP em mmol/kgPC^{0,75} e o consumo expresso em g/kgPC^{0,75}. Usando infusão de RNA no abomaso e considerando a excreção de DP em função do fluxo de RNA

no abomaso e, os autores obtiveram a seguinte regressão: $\hat{Y} = 0,301 + 0,741x$ ($r^2 = 0,85$), indicando que 74% das purinas infundidas foram recuperadas na urina e que $0,301 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$ correspondeu à contribuição endógena.

Várias pesquisas têm sido realizadas e vem demonstrando valor constante de excreção de creatinina, não sendo esse influenciado pelas variações nas condições da dieta e sendo função constante em relação ao peso vivo (Susmel et al., 1994; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1999).

A produção microbiana tem sido expressa de diferentes formas: em função dos nutrientes digestíveis totais - NDT (NRC, 1985), da matéria orgânica degradada no rúmen - MODR (Agricultural Research Council - ARC, 1984), da energia metabolizável fermentável da dieta (Agricultural and Food Research Council - AFRC, 1993) e dos carboidratos totais degradados no rúmen - CHODR (CNCPS, descrito por Russell et al., 1992), de acordo com Valadares Filho (1995).

O NRC (2001) adotou para vacas em lactação, uma equação para corrigir o NDT dos alimentos fornecidos à vontade, baseando-se no fato de que a digestibilidade é reduzida com o aumento do consumo. No entanto, para gado de corte e, especificamente, para animais Nelore essa redução é pouco conhecida.

Dessa forma, para o presente trabalho foram utilizados oito animais da raça Nelore alimentados com dietas fornecidas desde a manutenção até o consumo voluntário com os objetivos de estimar a excreção endógena de DP, avaliar os consumos e digestibilidades dos nutrientes e desenvolver equações para estimar a excreção urinária de DP a partir do consumo de energia. Os mesmos animais submetidos a jejum prolongado serão utilizados para estimar as perdas endógenas de DP e de compostos nitrogenados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL -AFRC. **Energy and protein requirements of ruminants.** Wallingford, UK: CAB International, 1993. 159p.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. **The nutrient requirements of ruminant livestock.** nº1. Published by the Agricultural Research Council. England, 1984. 45p.
- BARBOSA , A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D.S.; DETMANN, E.; LEÃO, M. I. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 510-519, 2011.
- BRODERICK, G. A.; MERCHEN, N. R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 2618-2632, 1992.
- CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R.; HOVELL, F. D. D. Excretion of purine derivatives by ruminants: Endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition** v. 63, p. 121–129, 1990.
- 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. Aberdeen: Rowett Research Institute/International Feed Research Unit, 1992. 21p. (**Occasional Publication**).
- CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. International Feed Resources Unit, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen AB15 8QH, United Kingdom, 2003.
- GONZALEZ RONQUILO, 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, p.1282-1291, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC **Nutrient requirements of beef cattle**. 7 ed Washington : National Academic Press, 1996. 242 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of sheep** 6 ed. Washington, D. C.:National Academic Press, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washinton, D.C.: National AcademicPress, 2001. 381p.

OJEDA, A.; PARRA O.; BACELLS, J.; BELENGUER, A. Urinary excretion of purine in *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred cattle. **British Journal of Nutrition**, v.93, p.821-828, 2005.

ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S. M.; LIANG, J. B.; GUADA, J. A. Excretion of purine derivates in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001

OSUJI, P. O.; NSAHLAI, I. V.; KHALILI, H. Effect of fasting on the urinary excretion of nitrogen and purine derivatives by zebu *Bos indicus* and crossbred *Bos indicus* x *Bos taurus* cattle. **Journal of Applied Animal Research**, v.10, p.39-47, 1996.

PEREZ, J. F.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A.; CASTRILLO, C. 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 duodenal. **British Journal of Nutrition**, v.75, p.699-709, 1996.

PIMPA, O.; LIANG, J. B.; JELAN, Z. A.; ABDULLAH, N. Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah-Kelantan cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p. 203-214, 2001.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR.; J. D.; FOX, D. J.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.

- SNIFFEN, C.J.; ROBINSON, P.H. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.425-441, 1987.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E.; SPANGHERO, M.; MILLS, C. R. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agriculture Science**, v.123, p.257-265, 1994.
- VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; MERCHEN, N. R.; CLAYTON, M. K.; HATFIELD, R. D. Excretion of derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES FILHO, S. C. Eficiência de síntese microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: PEREIRA, J.C. SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 504., 1995 – Viçosa-MG **Anais**...Viçosa : UFV, 1995, p.504.
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfalfa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, p. 2686-2696, 1999.
- VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A.; ØRSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivatives excretion by steers. **Journal of Agriculture Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

Estimativa da excreção urinária de derivados de purina a partir do consumo de NDT e determinação da contribuição endógena em novilhas Nelore.

Resumo: Objetivou-se estimar a excreção endógena de derivados de purinas (DP), os consumos e as digestibilidades dos componentes dietéticos, a excreção urinária de DP a partir dos consumos de nutrientes digestíveis totais (NDT) e de matéria orgânica digestível (MOD). Utilizaram-se oito novilhas Nelores, com pesos corporais (PC) médios de 267 ± 17 kg, distribuídas em dois quadrados latinos 4 x 4. Os tratamentos constituíram de quatro diferentes níveis de oferta de matéria seca (MS), 1,0, 1,4, 1,8, 2,2% do PC, sendo a dieta composta de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado. As perdas endógenas de DP foram obtidas através da regressão entre a excreção de DP ($\text{mmol/kgPC}^{0,75}$) e o consumo de MS (CMS), expresso em $\text{g/kgPC}^{0,75}$. Quando a excreção de DP (mmol/dia) foi relacionada com as ingestões de MOD e de NDT, em kg/dia , obtiveram-se as equações: $\hat{Y}_{DP} = 32,98 + 21,94*MOD$ ($r^2 = 0,44$) e $\hat{Y}_{DP} = 32,47+20,40*NDT$ ($r^2=0,44$), respectivamente. A equação $\hat{Y} = 0,605 + 0,014x$ ($r^2 = 0,46$) relacionou a excreção de DP ($\text{mmol/ PC}^{0,75}$) com o CMS ($\text{g/kgPC}^{0,75}$), sendo $0,605 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$ a fração endógena de DP. As perdas endógenas de DP e de compostos nitrogenados obtidas quando os animais foram submetidos a jejum de 5 dias, com acesso livre a água foram de $0,332 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$ e $0,384\text{gN/kgPC}^{0,75}$, respectivamente. Conseqüentemente, estimou-se a exigência líquida de proteína para manutenção de $2,4\text{g/kgPC}^{0,75}$. A excreção de creatinina não foi influenciada pela restrição alimentar.

Palavra chave: contribuição endógena, derivados de purina, proteína microbiana

**Estimation of urinary excretion of purine derivatives from the TDN intake
and endogenous determination of the contribution in beef cattle.**

Abstract: The objectives of this experiment were to estimate the endogenous excretion of purine derivatives (PD), the intake and digestibility of nutrients, the urinary excretion of PD from intake of total digestible nutrients (TDN) and digestible organic matter (DOM). Eight heifers, 267 ± 17 kg body weights (BW), were assigned to two 4 x 4 Latin squares. The planned treatments were four different dry matter intake (DMI): 1, 0, 1.4, 1.8 and 2.2% BW. The diet contained 70% forage and 30% concentrate. The endogenous losses were obtained by regression between excretion of PD ($\text{mmol} / \text{BW}^{0,75}$) and DMI ($\text{g}/\text{BW}^{0,75}$). When PD excretion (mmol/d) was related to the intake of DOM and TDN (kg/d), the equations were obtained: $\hat{Y}_{\text{DP}} = 32,98 + 21,94 \cdot \text{DOM}$ and $\hat{Y}_{\text{DP}} = 32,47 + 20,40 \cdot \text{TDN}$, respectively. The PD excretion (mmol/d) was a function of DMI (kg/d): $y = 0.605 + 0.014 x$ ($r^2 = 0.46$), and $0.60 \text{ mmol}/\text{BW}^{0,75}$ was the endogenous PD. The endogenous losses of PD and nitrogen compounds obtained when the animals were fasted for 5 d, with free access to water, were $0.332 \text{ mmol}/\text{BW}^{0,75}$ and $0.384 \text{ gN}/\text{BW}^{0,75}$, respectively. The net protein requirements for maintenance of $2.4 \text{ g} / \text{BW}^{0,75}$ was estimated. The creatinine excretion is not affected by food restriction .

Keyword: contribution endogenous purine derivatives, microbial protein

INTRODUÇÃO

A determinação da produção de proteína microbiana tem sido importante área de estudo na nutrição de ruminantes já que está incorporada a todos os sistemas atuais de avaliação de proteína usados em diferentes países (Broderick & Merchen, 1992).

A necessidade de desenvolvimento de técnicas não invasivas na experimentação animal favoreceu a utilização da excreção de derivados de purinas (DP) na urina para a determinação da produção de proteína microbiana, como alternativa às determinações utilizando animais fistulados, entretanto, considerando que as perdas endógenas são subtraídas da excreção total de derivados de purinas para quantificar a produção de proteína microbiana, observa-se que valores inadequados podem resultar em produção microbiana sub ou superestimada (Susmel et al., 1994).

Apesar de, em princípio, a excreção urinária de DP poder ser utilizada como indicador da síntese de proteína microbiana, alguns fatores utilizados no modelo e que afetam a excreção de DP ainda não estão completamente elucidados. Entre eles a relação N purina: N total (NP/NT) nos microrganismos ruminais, a recuperação de purinas absorvidas e a excreção de derivados de purinas de origem endógena (Verbic et al., 1990; Chen & Gomes, 1992, Orellana Boero et al., 2001).

A excreção endógena, apesar de constituir um importante parâmetro na modelagem da excreção de DP (Chen & Orskov, 2003; Gonzalez-Ronquillo et al., 2003), é de difícil determinação em animais intactos (Fujihara et al., 1987) devido

a limitações técnicas para eliminar a contribuição dos microrganismos ruminais sob condições fisiológicas em ruminantes (Chen et al., 1990).

Chen et al. (1990) obtiveram a fração endógena de $514 \mu\text{mol}/\text{PC}^{0,75}$, utilizando 6 novilhos Holandês x Hereford alimentados por infusão intragástrica, nas quantidades diárias de zero (jejum) até os requerimentos de manutenção (450 kJ ME e 435 mg de N-caseína/kgPC^{0,75}). Entretanto, Orellana Boero et al. (2001) sugeriram que a alimentação dos animais no nível de manutenção seria um procedimento que melhor se aproximaria das condições normais de alimentação. Em cruzamentos de *Bos indicus* X *Bos taurus*, Ojeda et al. (2005) encontraram fração endógena de $277,3 \mu\text{mol}/\text{kgPC}^{0,75}$, entretanto os animais foram submetidos a jejum durante 5 dias. Barbosa et al. (2011) estimaram a excreção endógena em novilhas Nelore utilizando duas técnicas e encontraram valores de 0,24 e 0,30 mmol/kgPC^{0,75}. Verifica-se que a excreção endógena de derivados de purinas descrita na literatura varia de 146,34 a $514 \mu\text{mol}/\text{kgPC}^{0,75}$ o que pode ser atribuído aos diferentes métodos adotados e às possíveis diferenças entre *Bos taurus* e *Bos indicus* (Ojeda et al., 2005).

Para estimar a fração endógena de DP, a utilização do intercepto da regressão linear entre a excreção de derivados de purinas na urina obtida com vários níveis de ingestão não é um método apropriado em ovinos, segundo Chen et al. (1990), porque a relação entre a excreção de DP e a absorção de purinas não é linear. Entretanto, em bovinos essa relação é linear (Chen & Gomes, 1992), possibilitando esse método de determinação.

Segundo Pina et al. (2010), nos atuais sistemas de avaliação de proteína para ruminantes a produção microbiana é calculada a partir da quantidade de energia ou matéria orgânica degradável, aplicando-se fatores fixos ou variáveis para a produção microbiana por unidade de energia ou matéria orgânica degradada. No NRC (2001) foi utilizado um fator de eficiência microbiana fixo de 13% em relação ao consumo de NDT, quando o fornecimento de proteína degradada no rúmen não é limitante. Assim a proteína microbiana (g/dia) é estimada por $130 \times \text{consumo de NDT (kg/dia)}$. Pina et al. (2010), em vários trabalhos utilizando animais para a produção de carne e leite, submetidos a

diferentes condições de alimentação, recomendaram o valor de 120 g de PBmic/kg de NDT, como referência para as condições tropicais.

A possibilidade de estimar a excreção de DP a partir do consumo de energia e utilizar a excreção endógena obtida em condições tropicais permitirá estimar a produção ruminal de proteína bruta microbiana em condições práticas de alimentação.

Dessa forma, para o presente trabalho foram utilizados oito animais da raça Nelore alimentados com dietas fornecidas desde a manutenção até o consumo voluntário com os objetivos de estimar a excreção endógena de DP, avaliar os consumos e as digestibilidades dos componentes dietéticos, desenvolver equações para estimar a excreção urinária de DP a partir do consumo de energia. As perdas endógenas de DP e de compostos nitrogenados também foram obtidas, submetendo os animais a jejum.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição de Ruminantes do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa.

Foram utilizadas oito novilhas da raça Nelore, com peso inicial de aproximadamente 267 ± 17 kg, mantidas em regime confinamento no Laboratório de Animais (DZO/UFV). Os animais foram alojadas em baias individuais, cobertas, com piso de concreto revestido de borracha, com área de 9 m² e dotadas de comedouros de alvenaria e bebedouros individuais.

As dietas, constituídas de silagem de milho e concentrado nas proporções de 70 e 30% na base da matéria seca, respectivamente, foram fornecidas aos níveis de 1,0; 1,4; 1,8 e 2,2% do peso corporal (PC), constituindo os tratamentos experimentais. As rações foram balanceadas para conter aproximadamente 13% PB na base da MS. A proporção dos ingredientes no concentrado e a composição da silagem, do concentrado e da dieta encontra-se na Tabela 1.

Foi utilizado o delineamento em quadrado latino (QL), sendo os animais distribuídos em dois QL 4 x4, balanceados para o efeito residual, com quatro

animais, quatro tratamentos e quatro períodos experimentais. Cada um dos períodos experimentais teve duração de 14 dias, sendo os primeiros dez dias para adaptação dos animais aos níveis de oferecimento das dietas e do 11º ao 14º dia para coletas de amostras de alimento e de sobras e coletas totais de fezes e de urina.

TABELA 1 – Composição química da silagem de milho e do concentrado

	Silagem de milho	Concentrado¹	Dieta
MS	27,65	88,61	45,94
MO ²	94,27	93,74	94,11
PB ²	7,20	26,07	12,86
EE ²	2,65	3,47	2,90
FDNcp ²	52,25	11,85	40,13
CNF ²	32,17	56,27	39,40

MS= matéria seca; MO=matéria orgânica; PB=proteína bruta; EE= extrato etéreo; FDNcp= fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF= carboidratos não fibrosos.

¹ Proporção dos ingredientes no concentrado (%MS): fubá de milho: 68,31; farelo de soja: 26,12; uréia/SA: 2,21 e matéria mineral: 3,36. ² Percentagem na matéria seca da dieta.

A ração total foi fornecida duas vezes ao dia aos animais nos horários de 7:30 e 15:30 h. Diariamente, do 11º ao 14º dia, foram quantificados e amostrados a silagem e o concentrado fornecidos e as sobras de cada animal.

Do 11º ao 14º dia foi feita coleta total de fezes de cada animal, utilizando-se baldes de 20 litros, onde as fezes foram colocadas após cada defecação espontânea. Ao término de cada período de 24 h de coleta, as fezes foram pesadas, homogeneizadas e alíquotas de aproximadamente 300g foram armazenadas. A amostra composta de fezes de cada animal por período, constituída de 10% da excreção fecal diária foi obtida após a pré-secagem de cada alíquota em estufa ventilada a 65°C, por 72 a 96 horas e moagem em moinho com peneira de 1 mm.

A coleta total de urina de cada animal foi feita do 11º ao 14º dia, utilizando-se sondas de Folley nº 22, duas vias, com balão de 30 mL. Na extremidade livre da sonda foi adaptada mangueira de polietileno, pela qual a urina foi conduzida até recipientes de plástico com tampa, contendo 200 mL de H₂SO₄ a 20% para manter o pH final da urina abaixo de 3. Ao término de cada período de 24 h de

coleta, a urina foi pesada e homogeneizada, sendo obtidas amostras de 10 mL que foram diluídas com 40 mL de H₂SO₄ 0,036N e de 50 mL sem diluição. Ao final de cada período de coletas foi feita uma amostra composta de urina com base na excreção de cada dia. As amostras diluídas e concentradas foram armazenadas a -20°C para serem posteriormente analisadas para alantoína, ácido úrico e creatinina.

As análises de determinação da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), compostos nitrogenados (N), extrato etéreo (EE) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foram efetuadas nas amostras de silagem, concentrado e fezes, conforme técnica descrita por Silva & Queiroz (2002), sendo o teor de proteína bruta (PB) obtido pela multiplicação do teor de N pelo fator 6,25.

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos por intermédio da equação adaptada de Hall (2000): $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB_{ur\acute{e}ia} + \%Ur\acute{e}ia) + \%FDN_{cp} + \%EE + \%Cinzas]$.

O consumo de NDT foi obtido somando-se as quantidades digeridas de PB; $EE \times 2,25$; FDN_{cp} e CNF (Sniffen et al., 1992).

As análises de alantoína na urina foram feitas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). Para as determinações de creatinina e ácido úrico na urina foram utilizados kits comerciais da marca Labtest Diagnóstica S.A.

A excreção urinária total de derivados de purinas (DP) foi calculada pela soma das excreções de alantoína e de ácido úrico na urina, expressas em mmol/dia.

O balanço de nitrogênio foi obtido através da diferença entre o nitrogênio ingerido e o total excretado nas fezes e na urina.

As perdas endógenas foram calculadas através do intercepto da equação de regressão linear entre a excreção de DP em mmol/kgPC^{0,75} em função do consumo de MS em g/kgPC^{0,75}.

A relação dos consumos de NDT e matéria orgânica digestível (MOD) com a excreção de derivados de purina expressa em mmol/dia foi avaliada por intermédio do modelo de regressão linear simples.

As purinas absorvidas (PA) foram estimadas a partir da excreção de DP, segundo a equação: $PA = [DP - (0,301 * PC^{0,75})/0,80]$, na qual 0,301 é a excreção endógena e 0,80 representa a recuperação das purinas absorvidas (Barbosa et al., 2011). Os compostos nitrogenados (Nmic) foram calculados a partir das purinas absorvidas, utilizando a equação: $Nmic = (70 * PA)/0,93 * 0,137 * 1000$, na qual 70 é o teor em mg de N por mmol de purina, 0,93 a digestibilidade verdadeira das purinas e 0,137 é a relação Nmic: N total média obtida para as bactérias isoladas no rúmen (Barbosa et al., 2011).

Os resultados foram avaliados por meio de análises de variância utilizando-se o PROC GLM do programa SAS. As médias de tratamento foram obtidas segundo o modelo:

$$Y = \mu + T + QL + P(QL) + A(QL) + E$$

μ = constante igual;

T = efeito do tratamento;

QL = efeito do quadrado latino;

P(QL) = efeito aninhado de período dentro de QL;

A(QL) = efeito aninhado de animal dentro de QL;

E = erro aleatório pressuposto NID;

Os comportamentos linear, quadrático e cúbico das variáveis estudadas em relação a variação no consumo de MS observada foram avaliados considerando-se o consumo de MS observado com o variável independente, segundo o modelo:

$$Y = QL + T + T * T + T * T * T + P(QL) + A(QL) + QL * T + QL * T * T + QL * T * T * T + E.$$

Os modelos de regressão linear também foram ajustados por meio do PROC GLM do SAS, considerando-se o valor de 5% de probabilidade para ocorrência do erro tipo I em todas as análises realizadas.

As perdas endógenas também foram obtidas após o final do período experimental, onde todos os animais foram submetidos ao seguinte regime alimentar: restrição a 1% do PC em MS nos oito primeiros dias, a 0,5% do PC do nono ao 11º dia e jejum do 12º ao 16º dia, com acesso livre a água. Do décimo segundo ao décimo sexto foi feita coleta total de urina de cada animal e as amostras foram armazenadas e analisadas para creatinina, ácido úrico e alantoína,

como descrito anteriormente. A excreção endógena de derivados de purinas foi calculada pela soma das excreções de alantoína e de ácido úrico na urina, expressas em mmol/dia ou mmol/kgPC^{0,75} correspondentes aos quarto e quinto dias de jejum. O N endógeno foi avaliado através do N encontrados nas fezes e na urina nos quarto e quinto dias de jejum. A excreção de creatinina foi avaliada durante os cinco dias de jejum.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se aumento linear crescente ($P < 0,05$) para os consumos de MS, MO, PB, EE, FDNcp, CNF e NDT, em função dos níveis de consumo de MS da dieta, conforme o planejamento experimental (Tabela 2).

Os consumos médios de MS observados foram de 1,0; 1,39; 1,75 e 2,10% do PC, muito próximos aos planejados para criar uma faixa ampla de síntese ruminal de PB microbiana e, conseqüentemente, maior fluxo duodenal de purinas e maior excreção urinária de DP. Este método também foi utilizado, entre outros autores, por Barbosa et al. (2011), que trabalharam com novilhas Nelore que apresentaram consumo de MS que variando de 1,16 a 1,84 % do PC.

As digestibilidades da MS, MO, PB, FDNcp, CNF e o teor de NDT, apresentaram comportamento linear decrescente ($P < 0,05$) com o aumento do consumo de MS (Tabela 2). A redução da digestibilidade com o aumento do consumo de MS pode estar relacionada ao menor tempo de retenção no trato digestivo para dietas com maior consumo (Forbes, 1995). Segundo Van Soest (1994), o aumento do consumo favorece a taxa de passagem e dessa forma reduz a digestibilidade. Os valores encontrados nesse trabalho para a digestibilidade da MS variaram de 71,6 a 77,1%, sendo próximos aos encontrados por Barbosa et al. (2011) que variaram de 70,7 a 74% .

Tabela 2 – Médias obtidas para os consumos e as digestibilidades da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}), carboidratos não fibrosos (CNF) e consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT) em função dos níveis dos níveis de consumo de MS

Item	Níveis de consumo de MS (% PC)				Comportamento - p ¹			CV
	1,00	1,39	1,75	2,10	L	Q	C	%
Consumos (kg/dia)								
MS	2,67	3,69	4,71	5,67	<,0001	0,5708	0,8664	3,86
MO	2,51	3,48	4,43	5,38	<,0001	0,1359	0,7738	3,68
PB	0,35	0,48	0,61	0,73	<,0001	0,6356	0,8873	4,06
EE	0,08	0,11	0,13	0,16	<,0001	0,7435	0,4676	4,36
FDN _{cp}	1,07	1,48	1,88	2,28	<,0001	0,8028	0,9505	3,73
CNF	1,05	1,46	1,86	2,26	<,0001	0,8608	0,975	3,59
NDT	2,1	2,78	3,51	4,16	<,0001	0,8171	0,6494	5,65
Digestibilidades (%)								
MS	77,10	73,40	73,14	71,56	0,0033	0,3407	0,3387	4,14
MO	77,10	73,40	73,14	71,56	0,0023	0,7102	0,4877	4,14
PB	77,50	73,62	72,87	70,75	0,0013	0,4742	0,4118	4,57
EE	83,75	83,87	80,37	80,62	0,0986	0,9700	0,3291	5,63
FDN _{cp}	70,37	64,50	65,00	62,87	0,0098	0,2777	0,2454	7,17
CNF	88,80	87,35	85,66	84,59	0,0027	0,8324	0,8302	2,92
NDT(%)	78,66	75,24	74,50	73,42	0,0021	0,2553	0,5063	3,72

¹L= linear, Q = quadrático e C = cúbico.

O consumo e a digestibilidade podem estar positiva ou negativamente correlacionados, dependendo da qualidade da dieta (Van Soest, 1994). A correlação é positiva quando se utilizam dietas contendo alta proporção de volumoso de baixa qualidade, pois o volume ocupado pela fração de baixa digestibilidade reduz o consumo. O esvaziamento do trato gastrintestinal é dado pelo aumento na taxa de passagem; assim, o consumo é inversamente

relacionado com o conteúdo de FDN da dieta; no presente trabalho observa-se que o aumento do nível de consumo de MS diminuiu a digestibilidade.

A digestibilidade da MO apresentou comportamento linear decrescente ($P < 0,05$), com o aumento do consumo de MS (Tabela 2). Valores próximos a esses de 69,93% foram obtidos por Pereira (2009), trabalhando com novilhas Nelore com dieta de 60% volumoso, 30% concentrado e 10% caroço de algodão. Avaliando a digestibilidade da MO para o nível de consumo de 1,0% do PC dos animais no presente trabalho, observou-se valor de 77,10%, valor próximo ao relatado por Barbosa et al. (2011) de 76,7% obtido com novilhas Nelore alimentadas com dieta com 40% de concentrado e ofertada a 1,16% do PC.

A digestibilidade da proteína bruta variou 70,7 a 77,5%, apresentando comportamento decrescente em função do consumo de MS. Os valores encontrados no presente trabalho são superiores aos descritos por Barbosa et al. (2011). No entanto, Pereira (2009) trabalhando com novilhas Nelore consumindo 0,72 kg/dia de PB, encontrou digestibilidade de 69,37%, valor próximo ao obtido no presente trabalho com o consumo de 2,1% do PC, que foi de 70,7%.

Os coeficientes de digestibilidade do EE não foram afetados ($P > 0,05$) pelo nível de consumo de MS, mesmo comportamento observado por Leão et al. (2004) que encontraram média de 76,3%, quando as ofertas de MS variaram de 1,5 a 2,5% do PC em experimento com novilhos $\frac{1}{2}$ sangue Holandês-Zebu, alimentados com dieta na proporção de 60 % volumoso e 40% concentrado. Também o mesmo comportamento foi observado por Chizzotti et al. (2005), trabalhando com novilhos Nelore.

Os valores médios encontrados para a digestibilidade da FDNcp foram reduzidos linearmente ($P < 0,05$) pelo nível de consumo de MS e variaram de 62,9 a 70,4%, sendo próximos aos valores encontrados por Barbosa et al. (2011) de 62,6 a 66,2%, possivelmente por usarem proporções próximas de volumoso na dieta, considerando que quanto maior o teor de fibra, menor pode ser a digestibilidade. Diferente de Vêras et al. (2008), que também trabalhando com novilhas Nelores recebendo dietas contendo 25 e 50% de concentrado, encontraram valores médios de 43,79% e por Chizzotti et al. (2005), trabalhando

com novilhos Nelore alimentados com dieta na proporção 67% de silagem de sorgo e 33% de concentrado, que encontraram valores de 47,57%.

A digestibilidade dos CNF apresentou comportamento linear decrescente ($P < 0,05$) com o aumento do consumo de MS, com valores de 84,6 a 88,8%. Barbosa et al. (2011) encontraram digestibilidade dos CNF variando de 86 a 89%, valores próximos aos encontrados no presente trabalho. Por outro lado, Pereira (2009) observou variação de 60 a 72,49%. A média da digestibilidade dos CNF no menor nível de consumo de MS (1% do PC) foi semelhante àquela encontrada por Chizzotti et al. (2005), trabalhando com novilhos Nelore. A redução da digestibilidade dos CNF com o aumento do consumo se explica pelo aumento da taxa de passagem ruminal, com conseqüente redução da digestão desses carboidratos.

Conforme mostrado na Tabela 2, o teor de NDT apresentou comportamento linear decrescente ($P < 0,05$), resultando em redução de 5,3%, quando aumentou o nível de consumo de MS (1,0 para 2,1% do PC), estando próximo do valor de 5% obtido por Costa (2002) ao comparar ofertas livres e restrita (manutenção) de ingestão de matéria seca. Contudo Leão et al. (2004) observaram redução de somente 2% no teor de NDT, quando o nível de consumo foi aumentado de 1,5 para 2,5% do PC, utilizando novilhos $\frac{1}{2}$ sangue Holandês-Zebu

A excreção média de creatinina em função do consumo de MS de 25,67 mg/kgPC não foi afetada ($P > 0,05$) pelo nível de consumo de MS (Tabela 3). Barbosa (2005) obteve média de 27,1 mg/kgPC, para novilhas da raça Nelore enquanto Pereira (2009) encontrou valor de 26,35 mg/kgPC, também para animais Nelore. Rennó et al. (2000) concluíram que a excreção de creatinina não foi influenciada pela adição de concentrado na dieta e apresentou média de 27,36 mg/kgPC para novilhos não castrados mestiços e zebuínos. O valor reportado neste experimento encontra-se próximo ao relatado na literatura para animais de PC semelhante, porém de grupos genéticos e classes sexuais distintas.

A produção e, conseqüentemente, a excreção de creatinina estão relacionados à massa muscular, sendo esta proporcional, dentre outros fatores, ao peso do animal (Hobson, 1939; Lofgreen & Garret, 1954). Portanto tem sido

descrito que a excreção de creatinina não é influenciada pelo tipo e nível de dieta oferecida (Chizzotti et al., 2008), conforme o comportamento observado no presente trabalho ($P>0,05$) em relação aos níveis de consumo de MS.

As excreções médias de alantoína, ácido úrico e purinas totais, as purinas absorvidas e a produção de compostos nitrogenados microbianos (Tabela 3) aumentaram linearmente ($P<0,05$) com os níveis de consumo de MS. Dessa forma, o aumento dos níveis de consumo resultou em maior síntese ruminal de proteína microbiana, conseqüente das maiores quantidades de nutrientes disponíveis no rúmen para o crescimento microbiano.

A excreção de alantoína constituiu aproximadamente 89,69% da excreção total de DP. Relações próximas foram obtidas por Oliveira et al. (2001) e Vagnoni et al. (1997) de 85,4 e 86,6%, respectivamente. Segundo Verbic et al. (1990), a excreção de alantoína na urina representa 85% da excreção total de DP; Puchala & Kulasek (1992) sugeriram não ter necessidade de realizar todas as análises dos DP, mas apenas as de alantoína

Tabela 3 – Médias das excreções de creatinina (Crea), alantoína (Ala), excreção de ácido úrico (AcU) e de purinas totais (Ptotal), purinas absorvidas (PAbs), compostos nitrogenados microbianos (N mic) e eficiência microbiana (Efic) obtidas em função dos níveis de consumo de MS

Item	Níveis de Consumo de MS				Comportamento - p ⁵			CV ⁶ (%)
	1,00	1,39	1,75	2,10	L	Q	C	
Crea ¹	24,39	25,96	26,37	25,96	0,0670	0,0811	0,8885	5,83
Ala ²	72,48	77,00	96,73	97,60	0,0079	0,7977	0,2890	22,85
AcU ²	7,06	3,80	12,98	18,41	0,0205	0,2621	0,3471	99,92
Ptotal ²	79,54	80,77	109,70	116,01	0,0004	0,7190	0,1245	20,27
PAbs ²	74,77	76,21	112,18	119,95	0,0005	0,7192	0,1254	25,52
N mic ³	41,08	41,87	61,63	65,90	0,0005	0,7192	0,1253	25,52
Efic ⁴	122,37	93,65	109,20	98,98	0,2215	0,3492	0,1228	25,53

¹mg/kgPC; ²mmol/dia; ³g/dia; ⁴g/kgNDT; ⁵L= linear, Q = quadrático e C = cúbico; ⁶ Coeficiente de variação

A excreção de ácido úrico expressa em mmol/dia (Tabela 3) apresentou comportamento linear ($P<0,05$), constituindo em média 10,31% total do DP

excretado, valores próximos aos encontrados por Silva et al. (2001) e Giesecke et al. (1994), de 10,83% e 10,6%, respectivamente.

A excreção total de derivados de purina na urina apresentou comportamento linear crescente ($P < 0,05$) em função dos níveis de consumo de MS, refletindo a excreção urinária de alantoína e ácido úrico. Segundo Chen & Gomes (1992), devido à alta atividade da enzima xantina oxidase presente nos tecidos e no sangue dos bovinos, que é capaz de converter hipoxantina e xantina em ácido úrico antes da excreção urinária, a excreção total de derivados de purinas pode ser representada somente pela excreção de alantoína e ácido úrico nessa espécie. O aumento da excreção de DP com o aumento no consumo de MS está de acordo com Fujihara et al. (1987), Broderick & Merchen (1992) e Vagnoni et al. (1997).

Os compostos nitrogenados (Nmic) que foram calculados a partir da excreção de derivados de purina na urina, de acordo com Barbosa et al. (2011) para animais Nelore, apresentaram comportamento linear crescente em relação aos níveis de consumo de MS. Rennó et al. (2000), trabalhando com animais mestiços F1 Limousin x Nelore e F1 Simental x Nelore, observaram que o fluxo de compostos nitrogenados estimados pela excreção de derivados de purina microbianos apresentou comportamento linear crescente de acordo com os diferentes níveis de concentrado ($P < 0,01$), ressaltando-se que o cálculo do Nmic foi efetuado segundo Chen & Gomes (1992).

Segundo Owens & Goetsch (1986), a produção de N microbiano geralmente aumenta quando ocorre maior consumo de MS, isto explica o maior valor de Nmic encontrado, quando os animais consumiram a dieta no nível de 2,10% do PC. A produção média dos compostos nitrogenados (Nmic) mostrada na Tabela 3 foi de 52,62 g de N/dia, aproximadamente 10% maior que a encontrada por Barbosa et al. (2006), de 47,48 g de N/dia, com dieta de 25% de concentrado em animais Nelore. Rennó et al. (2003), em estudo com animais zebuínos, encontraram média de 31,29 g de N/dia em diferentes grupos genéticos (Holandês; 1/2Hol-Guz; 1/2 Hol-Gir e Zebu).

A eficiência microbiana foi em média de 106 gPBmic/kg NDT, próxima ao valor encontrado por Moraes (2003) de 104 gPBmic/kg NDT, trabalhando

com novilhos holandês x zebu, recebendo níveis crescentes de uréia nos suplementos (0; 1,2; 2,4; 3,6% na base da matéria natural). No entanto, o NRC (2001) recomenda 130g PBmic/kg NDT e Pina et al. (2010), compilando vários trabalhos utilizando animais para a produção de carne e leite, submetidos a diferentes condições de alimentação, recomendaram o valor de 120 g de PBmic/kg de NDT, como referência para as condições tropicais

A ingestão de N apresentou comportamento linear crescente, ($P < 0,05$) acompanhando o consumo de MS. Tibo et al. (2000), trabalhando com novilhos mestiços F1 Simental x Nelore, avaliando diferentes níveis de concentrado (25; 37,5; 50; 62,5; 75%), encontraram aumentos nos consumos de N, de acordo com os níveis de concentrado, o mesmo resultado encontrado por Dias et al. (2000), trabalhando com bovinos mestiços F1 Limousin x Nelore em substituição de concentrado com os mesmos níveis do trabalho descrito anteriormente, obteve aumento linear crescente em função do aumento do consumo da MS.

A excreção urinária de compostos nitrogenados não foi afetada ($P > 0,05$) pelos diferentes níveis de consumo de MS (Tabela 4). Santos et al. (2010), trabalhando com novilhas mestiças holandês-zebu com dieta contendo duas quantidades de concentrado (1 ou 2 kg), e 2 fontes protéicas (farelo de soja ou farelo de algodão) também não encontraram efeito para a excreção de N na urina. O mesmo comportamento foi encontrado por Rennó et al. (2000), que trabalhando com novilhos de raças de corte, não observaram diferenças nas excreções de N na urina entre os tipos de concentrados. Entretanto, Dias et al. (2000) verificaram aumento linear na excreção de N na urina com o aumento dos níveis de concentrado. Vários autores descreveram o aumento da excreção urinária de compostos nitrogenados em função do consumo de MS e PB da dieta, entre eles, Van Soest (1994).

A excreção de N fecal (Tabela 4) apresentou comportamento linear crescente em função do aumento do consumo de MS ($P < 0,05$). Trabalhando com bovinos Nelore, alimentados com dietas baseadas em silagem de milho e concentrado na proporção 75 e 25% com base na MS, balanceadas para conter 7, 10, 13 e 15% de PB, Vêras et al. (2007) também observaram comportamento linear crescente para excreção de N fecal, encontrando valores de 35,97 a 46,99

g/dia. Adicionalmente, Tibo et al. (2000), trabalhando com novilhos mestiços F1 Simental x Nelore, observaram aumento na excreção de N fecal com o aumento do nível de concentrado na dieta, variando de 29,30 a 42,43 g/dia.

O balanço de N aumentou linearmente ($P < 0,05$) com o aumento do consumo de MS (Tabela 4). Valadares et al. (1997b) obtiveram relação linear entre o balanço de N, expresso em g/dia e o teor de PB das dietas.

Tabela 4 – Médias de compostos nitrogenados ingeridos (N ing), excretado na urina (N urina), excretado nas fezes (N fezes) e balanço de N (BN) para os níveis de consumo de MS

Item	Níveis de Consumo de MS				Comportamento – p ²			CV ³ (%)
	1,00	1,39	1,75	2,10	L	Q	C	
N ing ¹	55,17	76,44	97,38	116,92	<,0001	0,4949	0,8487	4,03
N urina ¹	44,34	46,5	48,79	49,12	0,1165	0,6878	0,8388	13,39
N fezes ¹	12,48	20,35	26,55	34,38	<,0001	0,9899	0,4797	12,27
BN ¹	-1,64	9,59	22,05	33,42	<,0001	0,9736	0,7979	35,12

¹g/dia; ²L = Linear, Q = Quadrático e C = Cúbico; ³Coefficiente de Variação.

Vale ressaltar que foi verificado balanço de N negativo a 1% de consumo de MS, comportamento semelhante ao encontrado por Dias et al. (2000), trabalhando com bovinos mestiços F1 Limousin x Nelore com dieta de 25 e 37,5% de concentrado. Um balanço de N negativo significa que o nível de consumo de PB não foi suficiente para atender aos requerimentos de manutenção desses animais.

A excreção de derivados de purinas, expressa em mmol/dia (Tabela 3) aumentou linearmente com os níveis de consumo de MS na dieta. Dessa forma, quando foi avaliada em função do consumo de MO digestível, obteve-se a regressão linear simples apresentada na Figura 1, em que a excreção de $\hat{Y}_{DP} = 32,98 + 21,94 * MOD$. Mo et al. (2004), trabalhando com novilhos *B.indicus* e *B.namadicus*, com dieta oferecida a 40 e 95% do consumo voluntário, encontraram a regressão $\hat{Y}_{DP} = 21,4 * MOD + 18,9$ ($r^2 = 0,97$). Barbosa et al. (2011), trabalhando com novilhas Nelore, observaram relação linear da excreção urinária de DP em função do consumo de MO digestível; $\hat{Y}_{DP} = 34,4 * MOD + 0,59$ ($r^2 = 0,74$). Relacionando a mesma variável para novilhas Nelore e usando

dieta contendo 60% de volumoso, Pereira (2009) encontrou a regressão $\hat{Y}_{DP} = 35,10*MOD + 14,57$ ($r^2=0,78$).

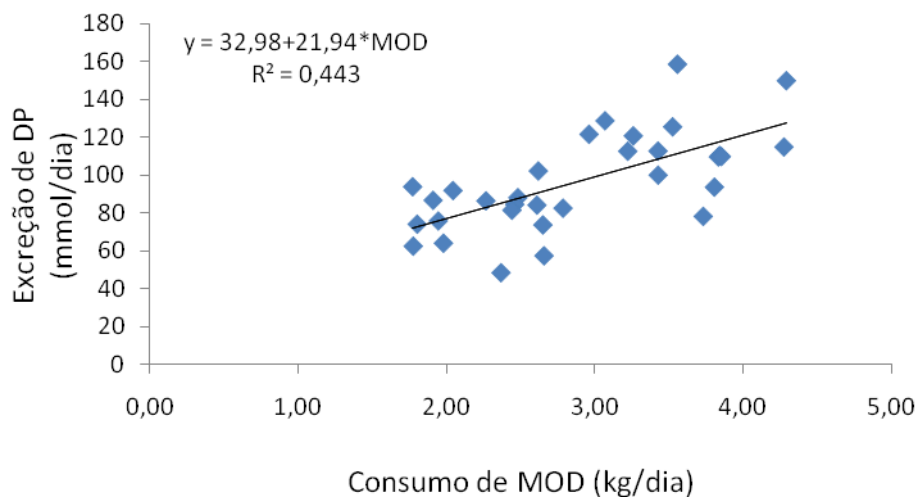


Figura 1 – Relação entre a excreção de derivados de purinas (DP), expressa em mmol/dia, e o consumo de MO digestível (MOD), kg/dia.

Quando a excreção de derivados de purinas expressa em (mmol/dia) foi relacionada com o consumo de NDT em kg/dia (Figura 2), obteve-se a equação $\hat{Y}_{DP} = 32,47 + 20,40 * NDT$ ($r^2 = 0,44$), que resultou em excreção de 20,40 mmol de DP por kg de NDT consumido, valor inferior ao encontrado por Barbosa et al. (2011) que foi de 32,15 mmol para cada kg de NDT.

Quando se relacionou a excreção de derivados de purinas, em $mmol/kgPC^{0,75}$, com o consumo de MS expresso em $g/kgPC^{0,75}$ (Figura 3), foi obtida a equação: $\hat{Y} = 0,605 + 0,014X$ ($r^2=0,46$), na qual o valor do intercepto de 0,605 $mmol/kgPC^{0,75}$ representa a fração endógena de DP excretada na urina. Em animais intactos a excreção endógena de DP é de difícil avaliação, devido a limitações de eliminar a contribuição dos microrganismos ruminais sob condições fisiológicas normais em ruminantes (Fujihara et al., 1987; Chen et al., 1990).

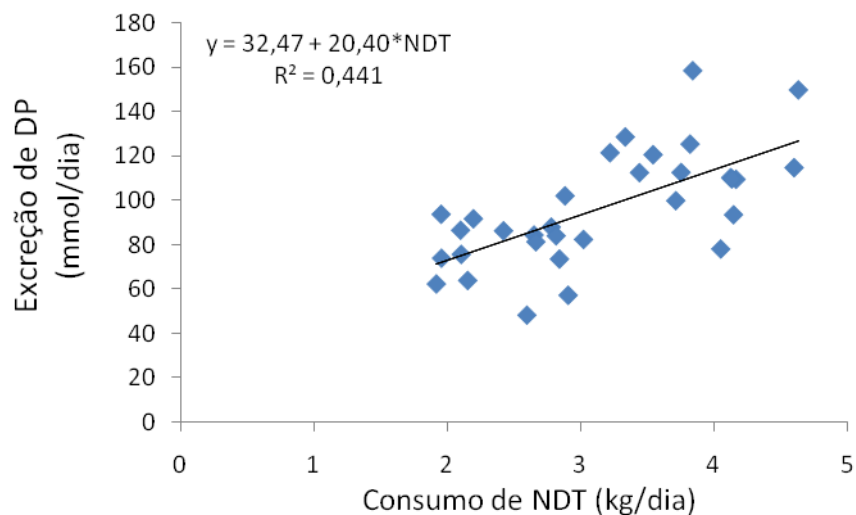


Figura 2 – Excreção de derivados de purinas (mmol/dia) em função do consumo de NDT (kg /dia).

Barbosa et al. (2011), trabalhando com novilhas Nelore, também estimaram a fração endógena a partir da relação entre a excreção de DP em mmol/kgPC^{0,75} e o consumo de MS expresso em g/kgPC^{0,75} e encontraram o valor de 0,242 mmol/kgPC^{0,75} representando a fração endógena. Segundo Pimpa et al. (2001), a excreção endógena de DP foi de 0,147 mmol/kgPC^{0,75} em bovinos Kedah-Kelantan (*Bos indicus*), enquanto Osuji et al. (1996) relataram o valor de 0,170 mmol/kgPC^{0,75} em bovinos Zebu mantidos em jejum. Diferenças entre valores de excreção endógena de DP também foram encontrados para vacas lactantes. Segundo Gonzalez-Ronquillo et al. (2003), podem ocorrer variações de 0,259 a 0,530 mmol/kgPC^{0,75}, de acordo com o estágio de lactação. Os valores descritos na literatura em relação à perda endógena variam de 146,34 a 770 μmol/kgPC^{0,75} de acordo com o animal e seu estado fisiológico.

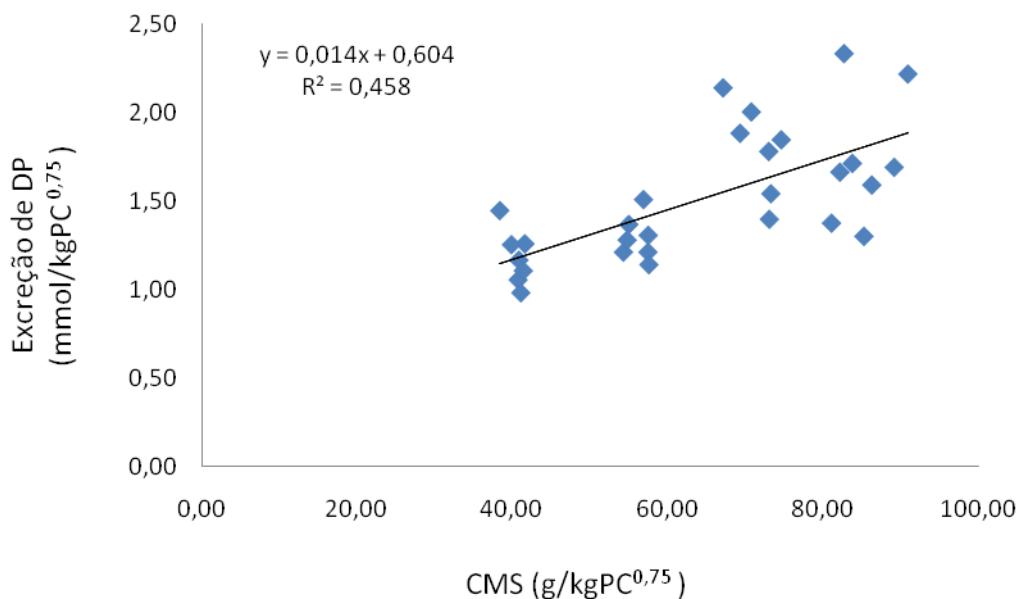


Figura 3 – Relação entre a excreção de derivados de purinas, expressa em mmol/kgPC^{0,75}, e o consumo de MS, em g/kgPC^{0,75}.

Na Figura 4 é mostrada a relação entre a excreção de N fecal e o consumo de N, expressos em g/kgPC^{0,75}, conforme a equação: $\hat{Y} = 0,350x - 0,104$ ($r^2 = 0,86$), permitindo estimar o nitrogênio metabólico fecal de 0,104 g/kgPC^{0,75}.

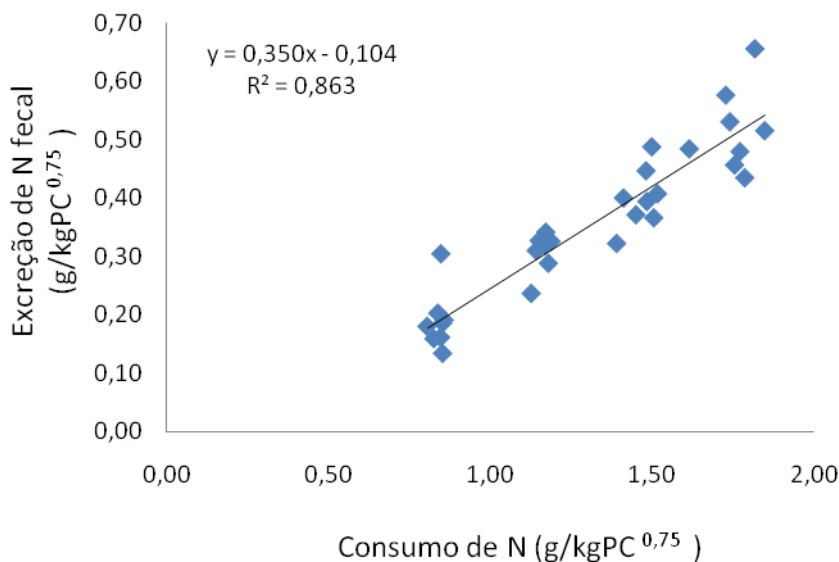


Figura 4 – Relação entre a excreção de N fecal e o consumo de N, expressos em g/kgPC^{0,75}.

A partir dos resultados do período em que os animais foram submetidos ao jejum, observou-se que a excreção de derivados de purinas no quarto dia foi de 0,381 mmol/kgPC^{0,75} e no quinto dia de jejum foi 0,283 mmol/kgPC^{0,75}, sendo considerada a média de 0,332 ± 0,069 mmol/kgPC^{0,75}. Segundo Balcells et al. (1991), a excreção de DP em jejum pode ser considerada uma estimativa aproximada da contribuição endógena para a excreção urinária, embora não existam evidências experimentais de uma ausência completa de derivados de purina de origem exógena, durante a restrição alimentar. Ojeda et al. (2005), trabalhando com animais *Bos indicus* x *Bos taurus*, submetidos a 5 dias de jejum, relataram que a excreção endógena de DP foi de 0,277 mmol/kgPC^{0,75}. Valor de 0,170 mmol/kgPC^{0,75} foi encontrado por Osuji et al. (1996), trabalhando com animais *Bos indicus* também mantidos em jejum. Chen & Orskov (2003) criticam o método de jejum prolongado devido ao fato de alterar as atividades metabólicas do animal e, portanto, a taxa de degradação de ácidos nucléicos. No entanto, Barbosa et al. (2011) sugeriram para animais Nelore uma excreção endógena de DP de 0,300 mmol/kgPC^{0,75}, valor 9,6% menor do que o de 0,332 mmol/kgPC^{0,75} encontrado após o jejum.

Há vários registros demonstrando que a excreção de creatinina consiste em uma função constante do peso vivo dos animais (Orskov & Mcleod, 1982; Susmel et al., 1994; Vagnoni et al., 1997; Valadares et al., 1997a; Valadares et al., 1999 e Rennó, 1999) e não é afetada pelos diferentes níveis de consumo (Oliveira et al., 2001). A relação entre a excreção de creatinina e o período em que os animais foram submetidos ao jejum apresentou a equação $\hat{Y} = 0,211 * \text{Dia}$, onde o valor de 0,211 mmol/kgPC^{0,75} representa a excreção de creatinina no período de jejum (Figura 5), dessa forma pode-se dizer que a excreção de creatinina não foi afetada pelo jejum, o mesmo comportamento observado por Belenguer et al. (2002), quando submeteu os ovinos ao jejum durante 6 dias, encontrando valor de 0,266 mmol/kgPC^{0,75}.

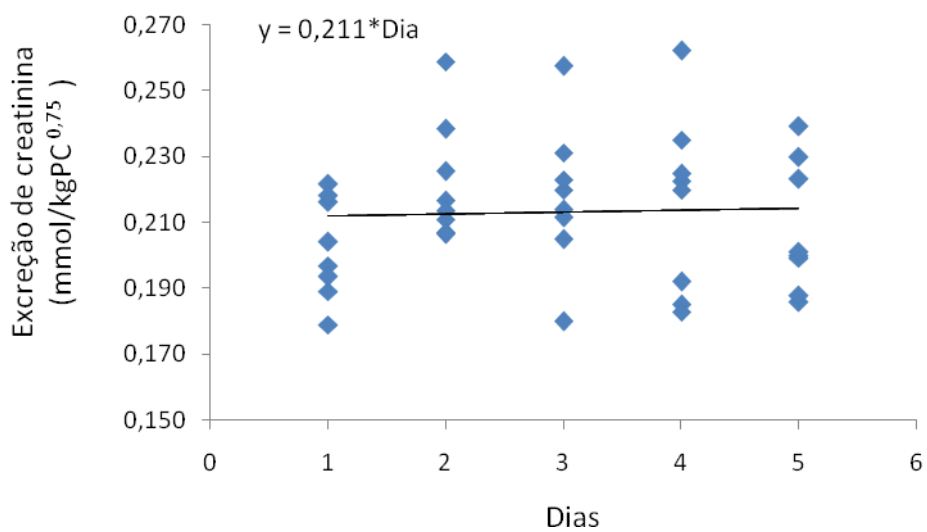


Figura 5 – Relação entre a excreção de creatinina, expressa mmol/kgPC^{0,75} e os dias que os animais foram submetidos ao jejum.

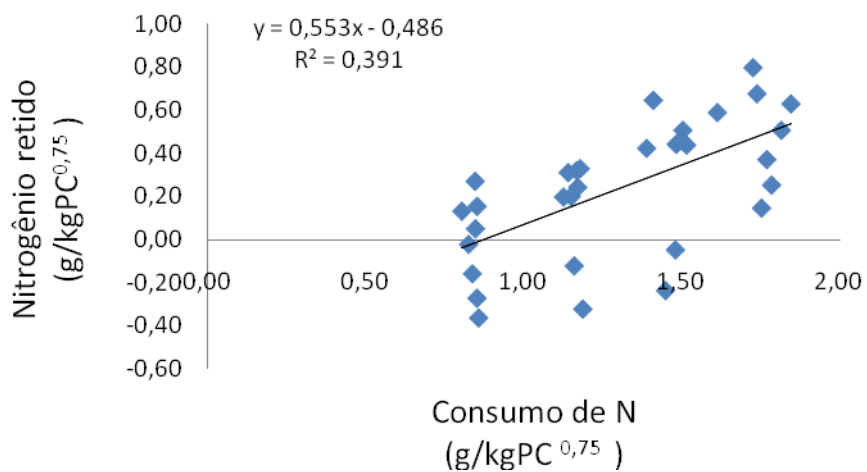


Figura 6 – Relação entre o N retido e o consumo de N (g/kgPC^{0,75}).

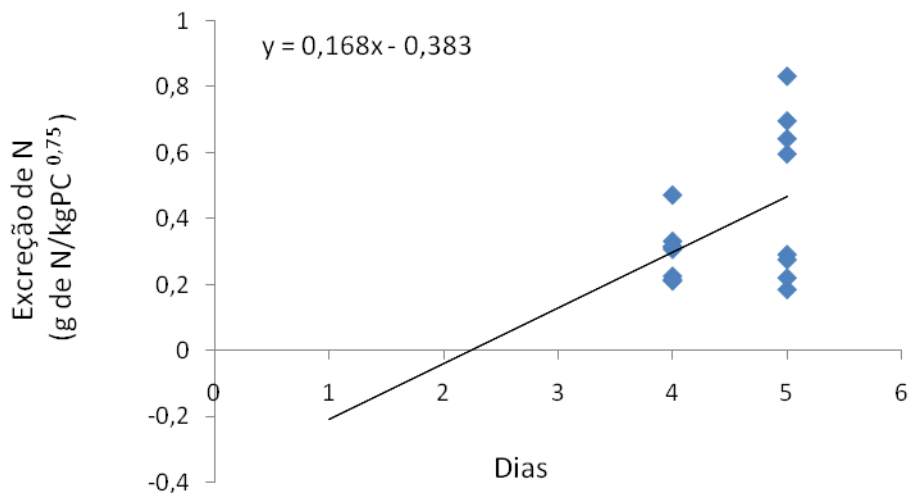


Figura 7 – Relação entre excreção de N, expresso em (g/kgPC^{0,75}) nos dias quarto e quinto do período jejum.

A relação entre a excreção de N expresso em g/kgPC^{0,75} nos dias quarto e quinto do período de jejum (Figura 7), foi descrita pela equação $\hat{Y} = 0,168x - 0,383$, em que 0,383 g de N/kgPC^{0,75} representa a fração endógena de N ou 2,40 ± 1,21 g de PB/kgPC^{0,75}. Esse valor é próximo ao encontrado pela regressão entre o N retido e o consumo de N, expressos em g de N/kgPC^{0,75} com a seguinte equação $\hat{y} = 0,553x - 0,486$ ($r^2 = 0,39$), no qual 0,486 representa g de N/kgPC^{0,75} ou 3,04 g de PB/kgPC^{0,75} (Figura 6). Vêras et al. (2007), trabalhando com animais zebuínos da raça Nelore e usando quatro níveis de proteína bruta nas dietas (7,10, 13 e 15%), encontraram 0,431 g de N/kgPC^{0,75} para o N endógeno, ou 2,69 g de PB/kgPC^{0,75}. Tibo et al. (2000), trabalhando com animais mestiços F1 Simental x Nelore, obtiveram por regressão valor de 0,422 g de N/kgPC^{0,75} para as perdas endógenas de N. Esses valores foram superiores aos citados pelo AFRC (1993) de 2,3 g de PB/kgPC^{0,75} e Valadares et al. (1997b), de 0,246 g de N/kgPC^{0,75}.

CONCLUSÕES

Há redução de aproximadamente 5% no teor de NDT, quando o consumo passa de restrito para voluntário.

Existe uma relação linear entre a excreção de DP e consumo de MS.

Pode-se estimar a excreção urinária de DP a partir da ingestão de NDT e de MO digestível.

As excreções de derivados de purina no período de jejum possibilitam estimar a contribuição endógena de $0,332 \pm 0,063 \text{ mmol/kgPC}^{0,75}$, enquanto a excreção endógena de compostos nitrogenados é de $0,384 \text{ g de N/kgPC}^{0,75}$

A excreção de creatinina não é afetada pelo jejum.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford, UK: CAB International, 1993, 159p.
- BALCELLS J.; GUADA J. A.; CASTRILLO C.; SURRA J. C. Urinary excretion of allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum. **Journal Agriculture Science (Camb)**, v.116, p.309–317, 1991.
- BARBOSA, A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; VÉRAS, R. M. L.; LEÃO, M. I.; DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; MARCONDES, M. I.; SOUZA, M. A. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.870-877, 2006.
- BARBOSA, A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S.; DETMANN, E.; LEÃO, M. I. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle, **Journal Animal Science**, v.89, p.510-519, 2011.
- BARBOSA, A. M. **Período de coleta de urina e de fezes para avaliação da excreção de creatinina, produção microbiana e digestibilidade aparente dos nutrientes Nelore**. 2005. 62f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BELENGUER, A.; YAÑEZ, D.; BALCELLS, J., OZDEMIR BABER, N. H.; GONZALEZ RONQUILLO, M. Urinary excretion of purine derivatives and prediction of rumen microbial outflow in goats. **Livestock Production Science**, v. 77, p.127–135, 2002.
- BRODERICK, G. A.; MERCHEN, N. R. Markers for quantifying microbial

- protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2618-2632, 1992.
- CHEN, X. B.; MATHIESON, F. D. D. H.; REEDS, P. J. Measurements of purine derivatives in urine of ruminants using automated methods. **Journal of Agriculture Science**, v.53, p. 23-33, 1990.
- CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R.; HOVELL, F. D. D. Excretion of purine derivatives by ruminants: Endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**, v.63, p.121–129, 1990a.
- 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. Aberdeen: **Rowett Research Institute/International Feed Research Unit**, 1992. 21p. (Occasional Publication).
- CHEN, X. B.; ØRSKOV, E. R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants : Past, present and future. International Feed Resources Unit, Macaulay Land Use Research Institute, Craigiebuckler, Aberdeen, UK, 2003.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S, C. Determination of creatinine and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle, **Livestock Science**, v. 113, p. 218-225, 2008.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S, C.; LEÃO, M. I.; VALADARES, R. F. D.; CHIZZOTTI, F. H. M.; MAGALHÃES, K. A.; MARCONDES, M. I. Partial replacement of elephant-grass silage with cottonseed hulls: 1. Intake, degradability, and apparent ruminal, intestinal, and total tract digestibilities in steers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p.2093-2102, 2005.
- COSTA, M. A. L. **Desempenho de novilhos zebuínos e validação das equações do NRC (2001) para prever o valor energético dos alimentos nas condições brasileiras**. 2002. 80f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa.
- DETMANN, E.; PINA, D. S.; VALADARES FILHO, S. C.; CAMPOS, J. M. S.; PAULINO, M. F.; OLIVEIRA, A. S.; SILVA, P. A.; HENRIQUES, L. T.

- Estimação da fração digestível da proteína bruta em dietas para bovinos em condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.2101-2109, 2006.
- DIAS, H. L. C.; VALADARES FILHO, S. C.; COELHO DA SILVA, J. F.; PAULINO, M. F.; CECON, P. R.; VALADARES, R. F. D.; RENNÓ, L. N.; COSTA, M. A. L. Consumo e digestões totais e parciais em novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.545-554, 2000.
- DUTRA, A. R.; QUEIROZ, A. C.; PEREIRA, J. C.; VALADARES FILHO, S. C.; THIEBAUT, J. T. L.; MATOS, F. N.; RIBEIRO, C. V. M. Efeitos dos níveis de fibra e das fontes de proteínas sobre o consumo e digestão dos nutrientes em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.4, p.787-796, 1997.
- FORBES, J. M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. Wallingford: CAB International, 1995, 532p.
- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E. R.; REEDS, P. J.; KYLE, D. J. 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.
- GIESECKE, D.; EHRENTREICH, L.; STANGASSINGER, M. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.8, p.2376-2381, 1994.
- 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.
- HALL, M. B. Calculation of non-structural carbohydrates content of feeds that contain non-protein nitrogen. University of Florida, (Bulletin 339, p. A-25, April -2000).
- HOBSON, W.; Urinary output of creatine and creatinine associated with physical exercise, and its relationship to carbohydrate metabolism. **Biochemical**

- Journal**, v.33, p.1425-1429, 1939.
- LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; RENNÓ, L. N.; GONÇALVES, L. C.; CECON, P. R.; AZEVEDO, J. A. G.; VALADARES, R. F. D. Consumos e digestibilidades totais e parciais de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e extrato etéreo em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1604-1615, 2004.
- LOFGREEN, G. P.; GARRET, W. N. Creatinine excretion and specific gravity as related to the composition of the 9,10,11th rib cut of Hereford steers. **Journal of Animal Science**, v.13, p.496-500, 1954.
- MO, F.; WANG, Y. X.; XING, Z.; YANG, Y.F.; CHEN, X. B. The effect of different levels of feed intake on the urinary excretion of purine derivatives in Chinese yellow cattle.p 103-108 in Estimation of microbial protein supply in ruminants using purine derivatives. H. P. S. Makkar and X.B.Chen, ed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, te Netherlands, 2004.
- MORAES, E. H. B. K. **Suplementos múltiplos para recria e terminação de novilhos mestiços em pastejo durante os períodos de seca e transição seca-águas** 2003, 69f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef sheep**. New York: National Academy Press, 1985, 99 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle** . 7.ed. Washington, D.C: National Academy Press, 2001, 381p.
- OJEDA, A.; PARRA, O.; BACCELLS, J.; BELENGUER, A. Urinary excretion of purine in *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 93, p. 821-828, 2005.
- OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; RENNÓ, L. N.; QUEIROZ, A. C.; CHIZZOTTI, M. L. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos, **Revista**

- Brasileira de Zootecnia.**; v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S. M.; LIANG, J. B.; GUADA, J. A. Excretion of 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 of Nutrition**, v.47, p.625-636, 1982.
- OSUJI, P. O.; NSAHLAI, I. V.; KHALILI, H. Effect of fasting on the urinary excretion of nitrogen and purine derivatives by zebu (*Bos indicus*) and crossbred (*Bos indicus* x *Bos Taurus*) cattle. **Journal of Applied Animal Research**, v.10, p.39-47, 1996.
- OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Digest passage and microbial protein synthesis. In: MILLIGAN L. P.; GROVUM, W. L.; DOBSON, A. (Eds). **Control of digestion and metabolism in ruminants**. Prentice Hall, p.196-226, 1986.
- PEREIRA, V. S. A. **Influência do peso corporal e das características de carcaça sobre a excreção de creatinina e utilização de coleta *spot* de urina para estimar a excreção de derivados de purina e de compostos nitrogenados em novilhas Nelore**. 2009, 55f. (Tese de Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- PIMPA, O.; LIANG, J. B.; JELAN, Z. A.; ABDULLAH, N. Urinary excretion of duodenal purine derivatives in Kedah-Kelantan cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 92, p. 203-214, 2001
- PINA, D. S.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; CHIZZOTTI, M. L. Degradação ruminal da proteína dos alimentos e síntese de proteína microbiana. **Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados (BR CORTE)**. 2ª edição, p 13-46, 2010.
- PUCHALA, R.; KULASEK, G. W. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and excretion of purine derivatives. **Can. Journal of Animal Science**, v.72, p.821-830, 1992.
- RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.;

- PAULINO, M. F.; RENNÓ, F. P.; SILVA, P. A. Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por meio dos derivados de purinas na urina utilizando duas metodologias de coleta. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.37, n.3, p. 546-555, 2008.
- RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; BACKES, A. A.; RENNÓ, F. P.; AIVES, D. D.; PAIXÃO, M. L. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40. 2003 Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: 2003. CD-ROM. Nutrição de ruminantes
- RENNÓ, L. N.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I.; SILVA, J. F. C.; CECON, P. R.; GONÇALVES, L. C.; DIAS, H. L. C.; LINHARES, R. S. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p. 1235-1243, 2000.
- RENNÓ, L. N. **Produção de proteína microbiana utilizando derivados de purina na urina, concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos.** 1999. 95f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- SANTOS, S. A.; CAMPOS, J. M. S.; VALADARES FILHO, S. C.; OLIVEIRA, A. S.; SOUZA, S. M.; SANTIAGO, A. M. F. Balanço de nitrogênio em fêmeas leiteiras em confinamento alimentadas com concentrado à base de farelo de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.39, n.5, p 1135-1140, 2010.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos – métodos químicos e biológicos.** 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2002.
- SILVA, R. M. N.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; RENNÓ, L. N.; SILVA, J. M. 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.; PLAZZOTA, E.; SPANGHERO, M.; MILLS, C. R. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, v.123, p.257-266, 1994.
- TIBO, G. C.; VALADARES FILHO, S. C.; COELHO DA SILVA, J. F.; VALADARES, R. F. D.; LEÃO, M. I.; CECON, P. R.; SAMPAIO, R. L. Níveis de concentrado em dietas de novilhos F1 Simental x Nelore: 1- Consumo e digestibilidades. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.29, n.5, p. 921-929, 2000.
- VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; MERCHEN, N. R.; CLAYTON, R. D.; HATFIELD, R. D. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.1695-1702, 1997.
- VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, P. V. R.; MAGALHÃES, K. A. **Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-CORTE**. VIÇOSA : UFV, DZO, 2006. 142 p..
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfafa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**. v. 82, p. 2686-2696, 1999.
- VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; VALADARES FILHO, S. C.; SAMPAIO, I. B. 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, 1997a.
- VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUEZ , N. M.; SAMPAIO, I. B.; VALADARES FILHO, S. C. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279–1282, 1997b.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Constock Publishing Associates. 1994. 476p.
- VÉRAS, R. M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; RENNÓ, L. N.; PAULINO, P. V. R.; SOUZA, M.A. Balanço de compostos

nitrogenados e estimativa das exigências de proteína de manutenção de bovinos Nelore de três condições sexuais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.1212-1217, 2007 (supl.)

VÉRAS, R. M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; AZEVEDO, J. A. G.; DETMANN, E.; PAULINO, P. V. R.; BARBOSA, A. M.; MARCONDES, M. I. Níveis de concentrado na dieta de bovinos Nelore de três condições sexuais : consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira Zootecnia** v.37, n.5, p. 951-960, 2008.

VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A, ORSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants. effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivatives excretion by steers. **Journal Agriculture Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.