

LUCIANA LOUZADA PRATES

**UTILIZAÇÃO DA $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -UREIA INFUNDIDA INTRAVENOSAMENTE
EM BOVINOS NELORE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de Doctor Scientiae

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P912u
2015 Prates, Luciana Louzada, 1983-
Utilização da 15N15N-ureia infundida
intravenosamente em bovinos Nelore : reciclagem de ureia
em bovinos Nelore / Luciana Louzada Prates. - Viçosa, MG,
2015.
x, 64f. : il. ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador : Rilene Ferreira Diniz Valadares.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

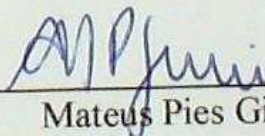
1. Nelore (Bovino). 2. Nutrição animal. 3. Ureia.
4. Rúmen - Bactérias. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Veterinária. Programa de Pós-graduação
em Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22 ed. 636.0855

UTILIZAÇÃO DA $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -UREIA INFUNDIDA INTRAVENOSAMENTE EM BOVINOS NELORE

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

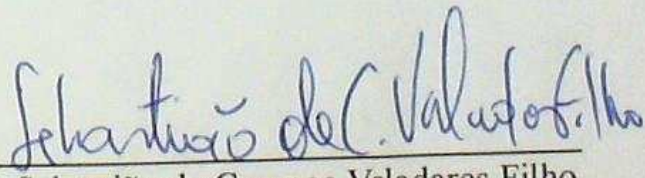
APROVADA: 10 de junho de 2015.



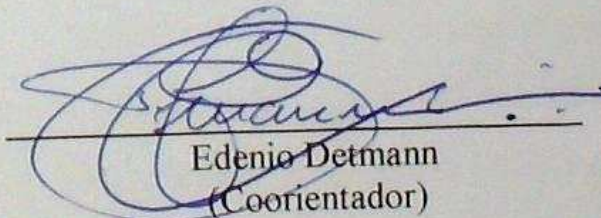
Mateus Pies Gionbelli



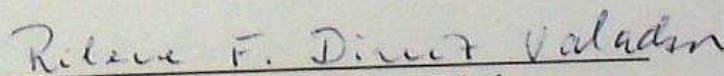
Mário Luiz Chizzotti



Sebastião de Campos Valadares Filho
(Coorientador)



Edenio Detmann
(Coorientador)



Rilene Ferreira Diniz Valadares
(Orientadora)

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	4
2.1. Animais, tratamentos e manejo	4
2.2. Procedimento experimental.....	5
2.3. Análises Laboratoriais	9
2.4. Cálculos.....	11
2.5 Análises estatísticas	12
3. RESULTADOS	13
4. DISCUSSÃO	33
5. CONCLUSÃO	43
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
8. ADENDO	54

RESUMO

PRATES, Luciana Louzada, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2015. **Utilização da $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia infundida intravenosamente em bovinos Nelore.** Orientadora: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Coorientadores: Sebastião de Campos Valadares Filho e Edenio Detmann.

Objetivou-se avaliar o efeito de classe sexual e de níveis dietéticos de proteína bruta sobre o consumo e a digestibilidade total dos constituintes das dietas, o balanço de compostos nitrogenados, as quantidades de ureia filtrada e reabsorvida nos rins e excretada na urina em bovinos Nelore. Avaliou-se, também, a produção de proteína microbiana e a reciclagem qualitativa da ureia. Foram utilizados oito animais da raça Nelore, sendo quatro novilhos inteiros e quatro novilhas, com peso corporal (PC) médio inicial de $333,5 \pm 24,4$ e $292 \pm 12,9$ kg, respectivamente, fistulados no rúmen, distribuídos em dois Quadrados Latino (QL) 4 x 4. As dietas, contendo 50% de silagem de milho e 50% de concentrado na base da matéria seca (MS), foram fornecidas duas vezes ao dia, ad libitum e foram constituídas de quatro níveis de proteína bruta (PB): 9,0; 11,0; 13,0 e 15,0 % na base da MS, correspondendo a 65,91; 68,32; 70,00 e 71,35% de PDR. Cada período experimental teve duração de 14 dias, com sete dias de adaptação e sete dias para procedimentos e coletas de amostras de alimentos, sobras, sangue, digesta e fluido ruminais, urina e fezes. Para avaliar a reciclagem de ureia, utilizou-se infusão intravenosa de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia, na dose diária de 220 mg de ^{15}N -ureia, por 72 horas. As variáveis dependentes foram avaliadas de acordo com o delineamento em QL 4 x 4 e a comparação entre níveis dietéticos de PB foi realizada através da decomposição ortogonal da soma dos quadrados associada às fontes de efeito linear, quadrática e cúbica. Essas análises foram conduzidas utilizando o procedimento MIXED do SAS, assumindo-se variâncias homogêneas entre as dietas. Não houve efeito de interação ($P > 0,05$) entre as classes sexuais e níveis dietéticos de PB para qualquer das variáveis avaliadas neste estudo. A classe sexual e os níveis dietéticos de PB não afetaram ($P > 0,05$) os consumos de MS, matéria orgânica (MO), MO digerida (MOD), extrato etéreo (EE) e carboidratos

não fibrosos (CNF), em kg/dia, nem os consumos de MS e da fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), em função do PC. Não houve efeito de classe sexual ($P > 0,05$), mas houve efeito linear de níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre os consumos de PB e de NDT e sobre as digestibilidades totais de PB e de FDNcp. A excreção fecal de N foi maior em machos do que em fêmeas ($P < 0,05$) e foi afetada linearmente ($P < 0,05$) pelos níveis dietéticos de PB. O consumo, as excreções urinárias de N-total, ureia e N-ureico, o N retido, a relação NU:NT e a concentração plasmática de N-ureico não apresentaram efeito de classe sexual ($P > 0,05$), mas foram afetadas linearmente pelos níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$). Entretanto, esses efeitos não foram suficientes ($P > 0,05$) para resultar em diferenças no N retido expresso em função do N ingerido sendo em média 26,05 % do N ingerido. Não houve efeito de classe sexual ($P > 0,05$) ou de níveis dietéticos de PB ($P > 0,05$) sobre a excreção urinária de creatinina cuja média foi de 23,2 mg/kg PC nem sobre a taxa de filtração glomerular com média de 1,84 mL/min/kg PC. Não houve efeito da classe sexual ($P > 0,05$), contudo, houve efeito linear crescente de níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre as quantidades de ureia filtrada, reabsorvida e a excreção fracional de ureia. Considerando a excreção urinária de ureia (\hat{Y}) em função da ingestão de N (X), em g/dia, obteve-se a equação $\hat{Y} = 0,5606X$. Relacionando-se a concentração plasmática de N-ureico (\hat{Y} , mg/dL) e a ingestão de N (X , g/dia), obteve-se a equação: $\hat{Y} = 0,1234X$, enquanto a regressão $\hat{Y} = 3,9293X$ foi obtida relacionando-se a excreção urinária de ureia (\hat{Y} , g/dia) e a concentração plasmática N-ureico (X , mg/dL). A relação entre a excreção fracional de ureia (\hat{Y}) e a ingestão de N (X , g/dia) foi descrita pela equação: $\hat{Y} = 0,3684(1 - e^{-0,0105X})$. Houve efeito linear de níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre a produção de Nmic e sobre N degradado ingerido. A eficiência de utilização do N ingerido não foi afetada ($P > 0,05$) pelas classes sexuais ou pelos níveis dietéticos de PB. Em relação à eficiência microbiana houve efeito de classe sexual ($P < 0,05$), quando expressa em função da MOD, mas esse efeito não foi significativo ($P > 0,05$) quando expressa em função do consumo de NDT. Ajustando-se a produção de PBmic (g/dia) em função dos consumos de PB

(kg/dia) e de NDT (kg/dia) obteve-se a seguinte equação: $PB_{mic} = 179,98 + 37,6030 \times NDT + 0,2577 \times PB$. A excreção fecal de N pode ser estimada por: $N_{fecal} = -46,807 + 3,0662 \times NDT \text{ (kg/dia)} + 0,1579 \times N_{ing} \text{ (g/dia)} + 0,1697 \times PC \text{ (kg)}$. A excreção urinária de N (g/dia) pode ser predita pela equação: $N_{urinário} = -1,8803 - 7,6528 \times NDT + 0,5401 \times N_{ing}$. A regressão $\hat{Y} = 36,51 + 0,405X$ foi ajustada considerando-se a produção de N_{mic} (\hat{Y} , g/dia) e a ingestão de N (X, g/dia). Não houve efeito de classe sexual ($P > 0,05$) sobre a concentração de NH_3 ruminal, os teores de $^{15}N-NH_3$ ruminal e os teores e excreção diária de ^{15}N fecal. Houve efeito linear crescente de níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre a concentração de NH_3 ruminal, os teores de $^{15}N-NH_3$ ruminal e os teores ^{15}N nas fezes. Entretanto, não houve efeito dos níveis dietéticos de PB ($P > 0,05$) sobre a excreção diária de ^{15}N fecal sendo em média 17,75 mg/dia. As regressões $\hat{Y} = 23,6183e^{0,0104X}$ e $\hat{Y} = 0,2416e^{-0,0145X}$ foram ajustadas a partir da concentração ruminal de amônia (\hat{Y} , mg/dL) e os teores de $^{15}N-NH_3$ (\hat{Y} , %) em função da ingestão de N (X, g/dia), respectivamente. Os teores de ^{15}N fecal (\hat{Y} , %) foram avaliados em função da ingestão de N (X, g/dia), obtendo-se a seguinte regressão: $\hat{Y} = 0,08878 - 0,00034X$. Não houve interação tripla ($P > 0,05$) entre as classes sexuais, os níveis dietéticos de PB e as fases de bactérias, BAL e BAP sobre os teores de N-total microbiano nem sobre os teores de ^{15}N nas bactérias ruminais, nem diferença ($P > 0,05$) entre as fases BAL e BAP para as variáveis quantificadas. As interações duplas entre as variáveis independentes não foram significativas ($P > 0,05$), assim como os efeitos individuais ($P > 0,05$), com exceção dos níveis dietéticos de PB sobre os teores de N-total e de ^{15}N nas bactérias ruminais. Houve efeito cúbico ($P < 0,05$) dos níveis dietéticos de PB sobre os teores de N-total microbiano e efeito quadrático ($P < 0,05$) sobre os teores de ^{15}N nas bactérias ruminais. Foram ainda observados efeito linear decrescente dos níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre a produção diária de $^{15}N_{mic}$ expressa em mg/dia. As regressões $\hat{Y} = 1,0740X$ e $\hat{Y} = 1,0512X$ foram obtidas para BAL e BAP, respectivamente, em que \hat{Y} representa os teores de ^{15}N nas bactérias ruminais (%) e X, os teores de $^{15}N-NH_3$ ruminal (%). Considerando-se os teores de ^{15}N fecal (\hat{Y} , %) e teores de ^{15}N (X, %) nas fases BAL e BAP, as

seguintes regressões foram obtidas: $\hat{Y} = 0,2927X$ e $\hat{Y} = 0,2668X$, respectivamente. Não houve efeito individual de classe sexual ($P > 0,05$) sobre os percentuais de ^{15}N infundido no plasma que foi recuperado nas fezes ou nas bactérias. Também não houve efeito de níveis dietéticos de PB ($P > 0,05$) sobre os percentuais de ^{15}N infundido no plasma que foi recuperado nas fezes, sendo em média 8,06%. Entretanto, houve efeito linear decrescente dos níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre os percentuais de ^{15}N infundido no plasma recuperados nas bactérias, que variaram de 15,13 a 35,23. Conclui-se que a produção de proteína microbiana não é afetada pela classe sexual, mas aumenta linearmente com os consumos de PB e de NDT. BAL e BAP possuem mesmo teor de N-total e de N-ureico infundido recuperado. As concentrações de $^{15}\text{N-NH}_3$ no rúmen e ^{15}N nas bactérias são maiores para os menores níveis de PB dietéticos. Ocorre maior recuperação do N-ureico infundido por via intravenosa na proteína microbiana produzida em dietas com menor teor de PB.

ABSTRACT

PRATES, Luciana Louzada, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **Use of infused $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -urea by via jugular vein in Nellore cattle.** Adviser: Rilene Ferreira Diniz Valadares. Co-Advisers: Sebastião de Campos Valadares Filho and Edenio Detmann.

This study was designed to evaluate the effect of animal categories and levels of dietary crude protein on intake and total digestibility of constituents of diets, N balance, the urea quantity filtered and reabsorbed in the kidney and excreted by urine in Nellore cattle. Additionally, microbial protein production and qualitative urea recycling were evaluated. Eight ruminal fistulated Nellore animals, being four steers (333.5 ± 24.4 kg of initial BW) and four heifers (292 ± 12.9) were used in a 4 x 4 balanced Latin square (LS). The diets with 50% of corn silage and 50% of concentrate based on dry matter (DM) were offered daily, ad libitum, and were formulated to deliver four level of crude protein (CP): 9.0, 11.0, 13.0 and, 15.0 %, corresponding to 65.91, 68.32, 70.00 and, 71.35 % of RDP. Each experimental period lasted 14 days and consisted of 7 days of adaptation to the diet and 7 days of proceedings and sample collection of feed, orts, blood, ruminal digesta and fluid, urine and feces. Urea recycling was evaluated using infusion of $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -urea indwelling jugular vein in the daily dose of 220 mg of ^{15}N -urea for 72 hours. Dependent variables were evaluated according to LS design 4 x 4 and comparisons among dietary CP levels were carried out through orthogonal decomposition of the sum of squares associated to this source of variation in linear, quadratic and cubic effects. The analyses were conducted using the MIXED procedure of SAS (version 9.4), assuming homogeneous variances among diets. There was no interaction effect ($P > 0.05$) between animal categories and levels of CP dietary to any variables evaluated in this study. There was no effect ($P > 0.05$) from animal categories or levels of CP dietary on intake of DM, organic matter (OM), digested OM (dOM), ether extract (EE) and non-fibrous carbohydrates (NFC), in kg/day, neither on DMI and neutral detergent fiber corrected for ash and nitrogenous compounds (NDFap) in BW function. There was no effect ($P > 0.05$) from animal categories, but there was increased linear

effect ($P < 0.05$) from levels of CP dietary on CP and TDN intake and on CP and NDFap digestibilities. N fecal excretion was greater in males than females ($P < 0.05$) and was also increased linearly ($P < 0.05$) as the dietary CP increased. There was no effect ($P > 0.05$) on intake, urinary excretion of total-N, urea and N-urea, N retained, relationship NU:TN and plasmatic concentration of N-urea (PUN) from animal categories, but those variables increased linearly ($P < 0.05$) as the dietary CP increased. However, those effects were not able ($P > 0.05$) to change N retained related to N intake that was 26.05 % g of N retained/g of N intake. There was no effect from animal categories ($P > 0.05$) neither from dietary CP ($P > 0.05$) on creatinine urinary excretion whose average was 23.2 mg/kg BW and on glomerular filtration rate with 1.84 mL/min/kg PC as average. There was no effect ($P > 0.05$) from categories animal, however the quantities of urea filtered, reabsorbed and fractional excretion increased linearly as dietary CP increased. Considering the urea urinary excretion (\hat{Y}) in function of N intake (X), in g/day, the equation $\hat{Y} = 0.5606X$ was obtained. Regarding to PUN (\hat{Y} , mg/dL) and N intake (X, g/dia), the equation $\hat{Y} = 0.1234X$ was obtained, while the equation $\hat{Y} = 3.9293X$ was obtained regarding to urea urinary excretion (\hat{Y} , g/dia) and PUN (X, mg/dL). The relationship between urea fractional excretion (\hat{Y}) and N intake (X, g/day) was described on equation: $\hat{Y} = 0.3684(1 - e^{-0.0105X})$. There was increased linear effect ($P < 0.05$) from dietary CP on Nmic production. The efficiency of N utilization of N intake did not change ($P > 0.05$) from animal categories neither from dietary CP. Regard to microbial efficiency, there was linear effect ($P < 0.05$) from animal categories, when it was expressed in dOM function, but this effect was no observed ($P > 0.05$) when it was expressed in TDN intake function. CPmic (g/day) was adjusted using CP and TDN intake (kg/day) according to the follow equation: $CPmic = 179.98 + 37.6030 \times TDN + 0.2577 \times CP$. While fecal N excretion was estimated by: $N\text{-fecal} = -46.807 + 3.0662 \times TDN \text{ (kg/day)} + 0.1579 \times N\text{intake} \text{ (g/day)} + 0.1697 \times BW \text{ (kg)}$. N urinary excretion can be predicted from equation: $N \text{ urinary} = -1.8803 - 7.6528 \times TDN + 0.5401 \times N\text{intake}$. The equation $\hat{Y} = 36.51 + 0.405X$ was adjusted regarding to Nmic production (\hat{Y} , g/day) and N intake (X, g/day). There was no effect ($P > 0.05$) from animal categories on

ruminal NH_3 concentration, the proportion of ruminal $^{15}\text{N-NH}_3$ and the proportion and daily excretion of fecal ^{15}N . The ruminal NH_3 concentration, the proportion of $^{15}\text{N-NH}_3$ ruminal and the proportion of fecal ^{15}N increased linearly ($P < 0.05$) as dietary CP increased. However, there was no effect ($P > 0.05$) from dietary CP on ^{15}N fecal daily excretion whose average was 17.75 mg/day. The equations $\hat{Y} = 23.6183e^{0.0104X}$ and $\hat{Y} = 0.2416e^{-0.0145X}$ were adjusted from ruminal NH_3 concentration (\hat{Y} , mg/dL) and $^{15}\text{N-NH}_3$ proportion (\hat{Y} , %) as function of N intake (X , g/day), respectively. The proportion of fecal ^{15}N (\hat{Y} , %) was evaluated as a function of N intake (X , g/day), according to the follow equation: $\hat{Y} = 0.08878 - 0.00034X$. There was no triple interaction ($P > 0.05$) among animal categories, levels of dietary CP and bacterial phases liquid-associated bacteria (LAB) and particule-associated bacteria (PAB), on the proportion of microbial total-N neither on the proportion of ^{15}N in the ruminal bacteria. There was also no difference ($P > 0.05$) between LAB and PAB phases to the variables measured. Double interaction between the independent variables was not significant ($P > 0.05$), as well as individual effects ($P > 0.05$), except from dietary CP level on the proportion of total-N and ^{15}N in the ruminal bacteria. There was cubic effect ($P < 0.05$) from dietary CP on microbial total-N and quadratic effect ($P < 0.05$) on ^{15}N proportion in the ruminal bacteria. There were also observed decreased linear effect from dietary CP ($P < 0.05$) on $^{15}\text{N}_{\text{mic}}$ daily production in mg/day. The equations $\hat{Y} = 1.0740X$ and $\hat{Y} = 1.0512X$ were obtained to LAB and PAB, respectively, in which \hat{Y} means ^{15}N proportion in the ruminal bacteria (%) and X , ruminal $^{15}\text{N-NH}_3$ proportion (%). Considering the proportion of fecal ^{15}N (\hat{Y} , %) and the proportion of ^{15}N in LAB and PAB (X , %) the follow equations were obtained: $\hat{Y} = 0.2927X$ and $\hat{Y} = 0.2668X$, respectively. There was no individual effect ($P > 0.05$) from animal categories on the proportion of ^{15}N infused in the plasma recovered in feces or in bacteria. There was also no effect ($P > 0.05$) from dietary CP on the proportion of ^{15}N infused in the plasma and recovered in feces, average of 8.06%. However, there was decreased linear effect ($P < 0.05$) from dietary CP on the proportion recovered in bacterias. From this it can be conclude that the microbial protein production is not affected by animal categories, but

increases linearly as CP and TDN intake increase. LAB and PAB have the same proportion of total-N and recovery of N-urea infused. Ruminal $^{15}\text{N-NH}_3$ concentration and bacterial ^{15}N increase as dietary CP decreases. There is higher recovery of N-urea infused in the microbial protein production in diets with low CP level.

1. INTRODUÇÃO

Em bovinos, os compostos nitrogenados dietéticos podem ser degradados pela microbiota ruminal em amônia (NH_3), principal fonte de N para a produção de proteína microbiana, que pode suprir de 50 a 100 % da proteína metabolizável requerida por bovinos de corte (NRC, 1996). Complexas interrelações existem entre a proteína e a energia da dieta e a quantidade de proteína que será utilizada pelo animal (Broderick, 2003) e a reciclagem de ureia pode fornecer uma substancial contribuição para a disponibilidade de N ao longo do trato gastrointestinal (TGI) (Lapierre & Lobley, 2001). Entretanto, o conhecimento da reciclagem de ureia para a síntese de proteína microbiana e a utilização de compostos nitrogenados (N) dietéticos pode auxiliar a compreender melhor as exigências nutricionais de bovinos, evitando perdas excessivas de N e diminuindo os impactos negativos sobre o meio ambiente e a produção animal.

A maioria dos modelos nutricionais não considera a quantidade de N reciclado ao longo do TGI e a sua contribuição para a produção de proteína microbiana (Marini & Van Amburgh, 2005). Na última edição das Tabelas Brasileiras de Exigências Nutricionais de Zebu, BR-CORTE, descritas por Valadares Filho et al. (2010), os requerimentos de proteína degradada no rúmen (PDR) são calculadas multiplicando-se o requerimento de proteína para o crescimento de microrganismos ruminais por 1,11, ou seja, a eficiência da captura de N degradado no rúmen em N microbiano é considerada como 90%. No entanto, no BR-CORTE não há referências sobre a reciclagem de N para o TGI, nem a incorporação de N endógeno pela microbiota ruminal, devido à ausência de dados nacionais sobre o assunto. Assim, a reciclagem de N pode proporcionar uma melhor estimativa da exigência de PDR.

A absorção da amônia através do epitélio ruminal é a principal rota para a amônia que não foi utilizada pelos microrganismos ou a amônia proveniente do metabolismo de aminoácidos seja removida da circulação pelo fígado, onde é detoxificada através do ciclo da ornitina-ureia, sintetizando ureia (Milano &

Lobley, 2001). A ureia pode então ser excretada pela urina ou reciclada para o TGI (Simmons et al., 2009). Essa capacidade de transferência de ureia para o TGI pode representar importante forma de conservação de nitrogênio, principalmente se o animal estiver submetido a uma dieta com baixos níveis proteicos (Marini et al., 2004; Røjen et al., 2011). Entretanto, para que essa ureia reciclada seja efetivamente aproveitada, é necessário que ela esteja disponível no rúmen e seja utilizada para a síntese de proteína microbiana, fornecendo aminoácidos para o animal (Lapierre & Lobley, 2001; Marini & Van Amburgh, 2003).

A cinética da ureia vem sendo avaliada através do método não-invasivo de infusão intravenosa de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia (Jackson et al., 1984) e do modelo proposto por Lobley et al. (2000). Entretanto, há limitações na estimativa da quantidade de ureia endógena efetivamente incorporada pela microbiota ruminal, uma vez que, neste modelo, a produção de proteína microbiana é um componente da fração anabólica (UUA – urea-N utilised for anabolism), obtida por diferença entre a quantidade reciclada para o TGI e a soma da quantidade que retorna ao ciclo da ornitina e a excretada nas fezes. Estudos demonstraram que a fração UUA foi maior do que N-ureico reciclado incorporado para a síntese de proteína microbiana em novilhos cruzados alimentados com feno de baixa qualidade, suplementado ou não com farelo de soja (Wickersham et al., 2009), em novilhos *Bos taurus* (Brake et al., 2010) e em novilhas holandesas (Marini & Van Amburgh, 2003). Assim, a fração UUA estimada pela infusão de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia pode não fornecer suporte para a avaliação direta do N-ureico reciclado incorporado pelos microrganismos ruminais.

A compreensão sobre a ecologia da microbiota ruminal tem sido considerada complicada, uma vez que existem numerosas interrelações entre os microrganismos ruminais (Russell et al., 1992). Essa dificuldade tem levado a vários estudos que buscam avaliar não somente diferenças entre as populações microbianas no rúmen, mas as diferenças existentes entre bactérias associadas à fase líquida da digesta ruminal (BAL) e bactérias associadas à fase sólida, ou de

partícula, da digesta ruminal (BAP) (Craig et al., 1987; Hristov et al., 2005; Krizsan et al., 2010).

Em ruminantes, a reabsorção renal de ureia pode desempenhar um importante papel na conservação de N (Starke et al., 2012). O aumento na reabsorção tubular, quando a concentração plasmática de ureia diminui, poderia disponibilizar N-ureico para reciclagem para o TGI. Entretanto, Marini & Van Amburgh (2003) e Røjen et al.(2011) não observaram maior entrada de ureia ao longo do TGI em resposta à baixa concentração plasmática de ureia.

Pode-se observar que a reciclagem de ureia foi avaliada em *B. taurus* (Al-Dehneh et al., 1997; Brake et al., 2010; Kristensen et al., 2010; Marini & Van Amburgh, 2003; Røjen et al., 2011; Wickersham et al., 2009) e em ovelhas (Milano et al., 2000; Milano & Lobley, 2001; Sarraseca et al., 1998). O metabolismo da ureia em cruzados *B. indicus* x *B. taurus*, *Bubalus bubalis*, *B. bateng* e *B. taurus* recebendo feno de baixa qualidade foi avaliado por Norton et al. (1979), que observaram diferenças significativas entre espécies na síntese e na degradação da ureia.

Considerando que resultados controversos são observados na literatura e que não foi encontrada referência sobre a reciclagem de ureia nem sobre a efetiva incorporação da ureia endógena pela microbiota ruminal em animais *B. indicus* de diferentes classes sexuais alimentados com níveis de proteína comumente utilizados na produção animal, este experimento foi realizado com fêmeas e machos não castrados alimentados com diferentes níveis de proteína bruta dietética e utilizando infusão intravenosa de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia. Objetivou-se avaliar o efeito de classe sexual e de níveis de proteína bruta de dietas sobre o consumo e a digestibilidade total dos constituintes dietéticos, o balanço de compostos nitrogenados, as quantidades de ureia filtrada e reabsorvida nos rins e excretada na urina em bovinos Nelore. Avaliou-se também, a produção de proteína microbiana e a reciclagem qualitativa da ureia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) – MG, Brasil, sendo todos os procedimentos aprovados pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Ufv, processo 23/2011. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório Animal DZO-UFV, enquanto as análises de ^{15}N no líquido ruminal, nas bactérias e nas fezes foram realizadas no Dairy and Swine Research and Development Centre no Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC).

2.1. Animais, tratamentos e manejo

Oito animais da raça Nelore, sendo quatro machos não castrados e quatro fêmeas não gestantes (com peso médio inicial de $333,5 \pm 24,4$ e $292 \pm 12,9$ kg e idade média de 12 meses), fistulados no rúmen, foram alojados individualmente em baias de 9 m², com piso de concreto revestido com borracha, equipadas com comedouros individuais de concreto e bebedouros.

Os machos e as fêmeas foram distribuídos em delineamento em quadrado latino (QL) 4x4, resultando em dois QL distintos estabelecidos a partir do agrupamento dos animais por classe sexual, sendo um QL para fêmeas e outro para machos. Cada QL foi balanceado para efeito residual contendo quatro animais, quatro períodos e quatro dietas.

As dietas, contendo 50% de silagem de milho e 50% de concentrado na base da matéria seca (MS), foram fornecidas duas vezes ao dia às 10h00 e 19h00, ad libitum. Os alimentos eram pesados e a quantidade diária fornecida aos animais era ajustada para garantir 5% de sobras. Esse ajuste era realizado, pesando-se as sobras obtidas a partir do que foi fornecido no dia anterior e considerando-se o teor de MS dos alimentos calculado durante o período. As dietas experimentais foram constituídas de quatro níveis de proteína bruta (PB) 9,0; 11,0; 13,0 e 15,0 % na MS da dieta, correspondendo a 65,91; 68,32; 70,0 e 71,35% de PDR (Tabela 1).

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais

	Ingredientes das dietas experimentais (%)			
	9	11	13	15
Silagem de milho	50,0	50,0	50,0	50,0
Milho grão	39,5	39,5	39,5	39,5
Farelo de trigo	9,0	6,0	3,0	0,0
Ureia/FS*	0,5	3,5	6,5	9,5
Mistura mineral	0,5	0,5	0,5	0,5
Sal	0,5	0,5	0,5	0,5
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
	Composição química da dieta ¹			
MS**	58,25	58,19	58,34	58,39
MO**	94,37	94,35	94,31	94,32
PB**	8,6	10,7	12,8	15,0
PDR (% da PB)	65,91	68,32	70,00	71,35
EE**	1,99	1,98	1,97	1,95
FDNcp**	35,46	34,50	33,53	32,56
CNF**	49,54	49,16	48,79	48,41
NDT***	72,00	71,95	71,91	71,86

*: 83,4% farelo de soja (FS) e 16,6% de ureia/ sulfato de amônio (SA), contendo 83,5% PB (41,75% da PB proveniente do FS e 41,75% da ureia/SA). PDR = estimada pela tabela CQBAL para $K_p = 0,05$. Ureia/SA foi considerada conter 252% de PB.

** : % MS. *** NDT foi estimado a partir das equações descritas pelo BR CORTE, 2010 (Consumo voluntário).¹: PB: proteína bruta; PDR: proteína degradada no rúmen; FDNcp: fibra solúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; NDT: nutrientes digestíveis totais; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos.

2.2. Procedimento experimental

Cada período experimental teve duração de 14 dias, com sete dias de adaptação e sete dias para procedimentos e coletas de amostras, de acordo com o seguinte cronograma: 1° ao 7° dia – adaptação dos animais às dietas; 8° dia – coleta de digesta e fluido ruminal (background); 9° dia – coleta de sangue e de

duas amostras spot de urina e fezes (background), às 6h00 e 8h00; 10° dia – inserção de sonda urinária tipo Foley nas fêmeas e de funis coletores de urina nos machos, colocação do cateter tipo Intracath na veia jugular; 10° ao 14° dia – amostragem de alimentos e coletas totais de fezes e de urina; 11° ao 1° dia do período seguinte – amostragem de sobras; 10° ao 13° dia – infusão intravenosa de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia; 13° dia – coleta de duas amostras spot de urina e fezes, às 8h00 e 10h00; 13° dia – coleta de digesta e fluido ruminais (enriquecimento).

A solução de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia foi preparada no 9° dia de cada período experimental, em capela de fluxo laminar em condições estéreis, combinando 8,65 g de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia (99,4% Cambridge Isotope Laboratories, Inc., Andover, MA, EUA), com 3712,00 g de solução salina (0,9% NaCl) estéril. A solução após ser filtrada em filtro 0,22 μm (Sterivex, Millipore Corporation, Billerica, MA), foi armazenada em recipiente de vidro esterilizado e selado com tampa de borracha estéril e mantida a 4°C até ser utilizada. Uma alíquota (1 mL) desta solução foi armazenada a -20°C para análise $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia. A infusão contínua da solução de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia foi ajustada de modo a proporcionar 0,60 mmol de N-ureia/h utilizando-se bomba de infusão (BS-9000 Multi-Phaser, Braintree Scientific Inc, Braintree, MA) com seringas descartáveis 60 mL (Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD, NJ, USA) acopladas, e conduzida através de extensores para equipo 1,20 metros (Compojet Biomédica Ltda, BA, BR). A infusão intravenosa teve início às 10h00 do 10° dia e término às 10h00 do 13° dia, perfazendo um total de 72 horas de infusão contínua, sendo que cada animal recebeu um volume total de 572 mL de solução através de Intracath (ICATH BD 16G x 12 (14Gx30), Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD, NJ, USA) inserido à veia jugular.

No 9° dia, foi coletada amostra de sangue por punção da veia coccígea de cada animal (10 mL) em tubos Vacutainer com heparina. Estas amostras background foram imediatamente refrigeradas e centrifugadas a 1.200 x g durante 15 min. O plasma foi armazenado a -20°C para posterior análise de ureia e creatinina.

As sobras de cada animal foram pesadas e, juntamente com a silagem de milho e o concentrado, foram amostradas e armazenadas a -20°C. Os ingredientes constituintes dos concentrados foram amostrados em recipientes plásticos com tampa diretamente dos silos da fábrica no dia em que os concentrados foram preparados. Ao final de cada período experimental, amostras de alimentos e sobras foram descongeladas e submetidas à secagem parcial em estufa de ventilação forçada a 60°C e moídas em moinho de facas com peneira de 1 mm (TECNAL Equipamentos para Laboratório, SP, Brazil) para análises químicas. As amostras compostas de sobras por animal por período foram obtidas a partir do agrupamento das amostras diárias de acordo com a proporção, em base da amostra seca ao ar.

Às 06h00 e 08h00 do 9º dia, duas amostras spot de urina e de fezes foram coletadas como amostras background, enquanto às 08h00 e 10h00 do 13º dia, amostras spot foram coletadas, correspondendo a 70 e 72 horas de infusão (amostras de enriquecimento), respectivamente. Todas as amostras background e de enriquecimento de urina foram filtradas em dupla camada de gaze e armazenadas a -20°C para posteriores análises de N-total, uréia e N-urina. As amostras background e de enriquecimento de fezes foram armazenadas a -80°C e liofilizadas (Freezemobile 24, Virtis, Gardiner, NY). As fezes liofilizadas foram moídas em moinho de facas com peneira de 1 mm (TECNAL Equipamentos para Laboratório, SP, Brazil) para análises N-total e ¹⁵N.

No 10º dia, funis foram adaptados aos machos e sondas de Foley nº 22, duas vias com balão de 30 mL, foram adaptadas às fêmeas para iniciar a coleta total de urina às 10h00. Uma mangueira de polietileno foi adaptada à extremidade livre da sonda e do funil através da qual a urina foi conduzida para um recipiente de plástico contendo 200 mL de H₂SO₄ 20%, para conservação de N. Este recipiente foi colocado em uma caixa de isopor de 80 L preenchida com gelo para conservação da creatinina (Van Niekerk et al., 1963). Do 10º até o 14º dia, a urina coletada diariamente foi pesada, homogeneizada, filtrada em dupla camada de gaze e duas alíquotas foram amostradas. Uma alíquota (50 mL) da amostra diária

foi armazenada a -20°C para análises de N-total, ureia e creatinina para avaliação do balanço de N, da digestibilidade e das excreções de ureia e creatinina. Outra alíquota (10 mL) foi misturada com 40 mL de H_2SO_4 0,5 M e armazenada a -20°C para análise subsequente dos derivados de purina (alantoína e ácido úrico).

A partir das 10h00 do 10° dia às 10h00 do 14° dia, coletas totais de fezes foram realizadas. As fezes foram recolhidas imediatamente após defecação espontânea e armazenadas em baldes de 20 L. Ao final de cada período de 24 horas, as fezes foram pesadas, homogeneizadas e aproximadamente 5 % do seu peso em matéria natural foram amostrados por animal, e em seguida armazenadas a -80°C e liofilizadas (Freezemobile 24, Virtis, Gardiner, NY). As fezes liofilizadas foram moídas em moinho de facas com peneira de 1 mm (TECNAL Equipamentos para Laboratório, SP, Brazil) para posteriores análises químicas.

Às 10h00 e às 14h00 do 8° dia, amostras de digesta ruminal foram coletadas para quantificação de amônia e de composição bacteriana e estimar o ^{15}N background na bactéria e na amônia. No 13° dia, o mesmo procedimento foi efetuado para obtenção de amostras para estimar o enriquecimento de ^{15}N .

Para quantificação de NH_3 , amostras de digesta ruminal foram coletadas às 10h00 e às 14h00 do 8° e do 14° dia em seis pontos do rúmen. Para cada animal, essas amostras pontuais foram homogeneizadas em recipientes plásticos, em seguida, o conteúdo foi filtrado através de filtro de nylon 100 μm com 44% de área de superfície de poro (Sefar Nitex 100/44, Sefar, Thal, Switzerland). 1 mL de H_2SO_4 50% foi adicionado à 10 mL de líquido ruminal em recipientes plásticos com tampa e armazenados a -20°C . As amostras obtidas às 10h00 e às 14h00 do 8° dia foram adicionalmente utilizadas para quantificação dos teores de $^{15}\text{N-NH}_3$ background, enquanto as amostras obtidas às 10h00 e às 14h00 do 13° dia obtidas foram utilizadas para quantificação do enriquecimento de $^{15}\text{N-NH}_3$.

O isolamento bacteriano foi realizado de acordo com os procedimentos descritos por Reynal et al. (2005) e adaptado por Krizsan et al. (2010). Dois litros de digesta ruminal foram coletadas via fistula ruminal imediatamente antes e 4 h

após a alimentação, resultando em 4 L de amostra composta por animal. As amostras compostas foram filtradas através de filtro de nylon 100 µm com 44% de área de superfície de poro (Sefar Nitex 100/44, Sefar, Thal, Switzerland) e o material sólido remanescente sobre o filtro foi lavado com 800 mL de solução salina (0,9% NaCl). O filtrado foi centrifugado a 1.000 x g por 10 min a 5°C para isolamento de bactérias associadas à fase líquida (BAL). Em seguida, o sobrenadante de cada amostra composta foi transferido para tubos e re-centrifugado a 11.250 x g por 30 min a 5°C, sendo o sobrenadante resultante descartado. O pellet remanescente foi re-suspenso em 20 mL de tampão McDougall (McDougall, 1948) e re-centrifugado a 16.250 x g por 20 min a 5°C. O sobrenadante foi descartado e o pellet armazenado em bandejas metálicas com tampa a -40°C. Para o isolamento de bactérias associadas à partícula (BAP), o material sólido retido no filtro de 100 µm durante a coleta e os pellets formados a partir da primeira etapa da centrifugação para isolamento de BAL foram transferidos para recipientes de 1L, aos quais foram adicionados 700 mL de solução salina (0,90% NaCl) contendo 0,1% (vol/vol) de Tween 80. O conteúdo foi homogeneizado por 20 s, utilizando liquidificador industrial, e reacondicionado nos recipientes de 1L, que foram mantidos durante uma noite a 4°C. No dia seguinte, o conteúdo foi filtrado através do filtro de nylon 100 µm e o filtrado foi submetido aos mesmos procedimentos de centrifugação descritos para o isolamento de BAL. O sobrenadante foi descartado e o pellet foi armazenado em bandejas metálicas com tampa a -40°C. Os pellets resultantes do isolamento de BAL e BAP armazenadas a -80°C, liofilizadas (Freezemobile 24, Virtis, Gardiner, NY) e, em seguida, macerados com um pilão e um almofariz plásticos e armazenados em recipientes plásticos com tampa a -20°C para posteriores análises químicas.

2.3. Análises Laboratoriais

As amostras compostas por animal e por período de alimentos, sobras e fezes, obtidas a partir da coleta total, foram analisadas para quantificação dos teores quantificadas MS, matéria mineral, nitrogênio, EE e FDN_{cp} de acordo com

os métodos INCT-CA G-003/1, INCT-CA M-001/1, INCT-CA N-001/1, INCT-CA F-001/1 E INCT-CA G-004/1, respectivamente (Detmann et al., 2012). O teor dos carboidratos não-fibrosos (CNF) foi calculado de acordo com Detmann & Valadares Filho (2010): $CNF = 100 - [(\% PB - \% PB \text{ proveniente da ureia} + \% \text{ ureia}) + \% FDN + \% EE + \% \text{ cinzas}]$.

Nas amostras de isolados de BAL e BAP foram realizadas avaliações dos teores de MS, MM e nitrogênio de acordo com os métodos INCT-CA G-003/1, INCT-CA M-001/1, INCT-CA N-001/1, respectivamente (Detmann et al., 2012), enquanto nas amostras de líquido ruminal foram quantificadas as concentrações de NH_3 , através da reação fenol-hipoclorito (Weatherburn, 1967) e quantificadas os teores de $^{15}N-NH_3$, através da combustão total em Autoanalyzer (N Analyzer 1500 – Carlo Erba Strumentazione, Italy) acoplado a espectrofotômetro de massa de razão isotópica (SIRA 12, VG Isogas, Middlewich, Cheshire, England).

Os teores de ^{15}N e de N-total em amostras background e enriquecidas de fezes e isolados de BAL e BAP foram determinados através da combustão total em Autoanalyzer (N Analyzer 1500 – Carlo Erba Strumentazione, Italy) acoplado a espectrofotômetro de massa de razão isotópica (SIRA 12, VG Isogas, Middlewich, Cheshire, England). As concentrações de N-total nas amostras compostas de urina foram quantificadas a partir do método INCT-CA N-001/1 (Detmann et al., 2012).

Nas amostras compostas de urina e de plasma foram quantificadas as concentrações de creatinina através do método Jaffé modificado (Creatinina – K016, Bioclin, Quibasa Química Básica Ltda, OBELIS S.A., Brussels, Belgium), as de ureia através de método enzimático colorimétrico (Uréia Enzimática – K046, Bioclin, Quibasa Química Básica Ltda, OBELIS S.A., Brussels, Belgium). Nas amostras compostas de urina ainda foram quantificadas as concentrações de ácido úrico através de enzimático colorimétrico UOD-PAP (Ácido Úrico Monoreagente – K139, Bioclin, Quibasa Química Básica Ltda, OBELIS S.A., Brussels, Belgium), utilizando-se Autoanalyzer (Analyzer Automatic, Biochemistry,

Midray, BS200E). As concentrações de alantoína nas amostras compostas de urina foram quantificadas a partir de método colorimétrico descrito por Fujihara et al. (1987), enquanto as concentrações de ureia plasmática foram quantificadas a partir de método colorimétrico enzimático (QuantiChrom™ Urea Assay Kit-DIUR-500, BioAssay Systems, CA, USA).

2.4. Cálculos

O fluxo contínuo da infusão da solução de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia através do cateter foi calculado considerando-se o fluxo de 8 mL/h de modo a proporcionar 0,30 mmol de uréia/h (18,6 mg de uréia/h), equivalente a 8,995 mg de ^{15}N /h (sendo 0,4836 a percentagem de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia na uréia). Considerando-se 98,7% o teor de enriquecimento e 99,4% o grau de pureza da $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ -ureia, a quantidade de ^{15}N infundido/h foi calculada como 9,17 mg/h ($8,995/0,981$), correspondendo a uma infusão de 220 mg de ^{15}N -ureia/dia ($9,17 \times 24\text{h}$).

A digestibilidade aparente total de cada nutriente foi calculada, considerando-se a quantidade ingerida e a excretada nas fezes. O balanço de N foi calculado subtraindo-se o N excretado nas fezes e na urina da quantidade de N ingerido.

As purinas absorvidas (PA) foram calculadas de acordo com a seguinte equação: $PA = DP - (0,405\text{mmol/kg}^{0,75})/0,99$, em que 0,405 representa a fração endógena de DP e 0,99, recuperação urinária de PA (Prates et al., 2012). A produção de Nmic foi estimada utilizando a equação: $Nmic = 70 PA/(0,93 \times 0,11 \times 1000)$ (Prates et al., 2012).

Os enriquecimentos de ^{15}N nas bactérias das fases BAL e BAP, de $^{15}\text{N-NH}_3$ e de ^{15}N fecal foram obtidos subtraindo-se os teores de ^{15}N presentes nas amostras background dos teores nas amostras enriquecidas. A quantidade de ^{15}N recuperada nas bactérias foi calculada multiplicando-se a produção de Nmic, estimada pela excreção de DP, pelo teor médio de ^{15}N nas bactérias das fases BAL e BAP. A

quantidade de ^{15}N fecal foi obtida multiplicando-se a excreção fecal de N pelo teor de ^{15}N (% N-total) das fezes.

A reabsorção renal de ureia foi calculada pela diferença entre as quantidades filtradas e excretadas na urina. A quantidade de ureia filtrada foi estimada pelo produto da concentração plasmática de ureia e o clearance da creatinina, enquanto a quantidade de ureia excretada foi obtida pelo produto da concentração da substância na urina e o volume urinário no período de 24h. O clearance renal da creatinina foi calculado pela relação entre a quantidade diária de creatinina excretada e a concentração plasmática de creatinina.

As excreções diárias de N-ureico foram obtidas pelo produto das concentrações urinária de ureia e o volume urinário de 24 horas multiplicado por 0,466. As concentrações de N-ureico plasmático foram obtidas dividindo-se a concentração de ureia plasmática por 2,14.

2.5 Análises estatísticas

As variáveis dependentes foram avaliadas de acordo com o delineamento em QL 4 x4 e as diferentes classes sexuais foram organizadas em cada QL seguindo-se esquema fatorial 2×4 (duas classes sexuais e quatro níveis de PB na dieta) utilizando-se o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + N_j + GN_{ij} + A_{(i)k} + P_{(i)l} + \varepsilon_{ijkl}$$

Em que Y_{ijkl} = variáveis dependentes mensuradas no animal k da classe sexual i submetido aos níveis de consumo de PB j durante l; μ = constante geral; G_i = efeito de classe sexual i confundida com efeito de QL i (efeito fixo); N_j = efeito dos níveis de consumo de PB j (efeito fixo); GN_{ij} = efeito da interação entre classe sexual i e os níveis de consumo de PB j (efeito fixo); $A_{(i)k}$ = efeito de animal k aninhado dentro da classe sexual i (efeito aleatório); $P_{(i)l}$ = efeito de período l aninhado dentro do QL i (efeito aleatório); e ε_{ijkl} = erro aleatório assumindo distribuição normal independente (NID) $(0; \sigma^2_\varepsilon)$.

A comparação entre os níveis de consumo de PB foi realizada através da decomposição ortogonal da soma dos quadrados associada às fontes de efeito de variação linear, quadrática e cúbica. Essas análises foram conduzidas utilizando o procedimento MIXED do SAS (Statistical Analysis System, version 9.4).

As associações entre variáveis foram estabelecidas por intermédio de equações de regressão linear e não linear. Os modelos lineares foram ajustados por intermédio do procedimento MIXED do SAS 9.4 considerando-se as influências dos efeitos aleatórios de animal e período experimental. Os modelos não lineares foram ajustados por intermédio do procedimento NLIN do SAS 9.4. A avaliação da influência de classes sexuais foi realizada por intermédio de variável “dummy”. A identificação da condição de linearidade ou não linearidade das relações foi estabelecida por intermédio da avaliação dos resíduos ordinários. Os ajustamentos dos modelos seguiram o método de backward regression.

Para todas as análises estatísticas utilizou-se $\alpha = 0,05$.

3. RESULTADOS

Os teores de PB obtidos para as dietas foram de 8,6; 10,7; 12,8 e 15,0 %, valores próximos aos planejados na elaboração do delineamento experimental de 9,0; 11,0; 13,0 e 15,0 %.

Não houve efeito de interação ($P > 0,05$) entre as classes sexuais e níveis dietéticos de PB para qualquer das variáveis avaliadas neste estudo, de maneira que os efeitos dessas variáveis independentes foram apresentados e discutidos isoladamente.

A classe sexual e os níveis dietéticos de PB não afetaram ($P > 0,05$) os consumos de MS, MO, MO digerida (MOD), EE e CNF. Houve efeito de classe sexual ($P < 0,05$) para o consumo de FDNcp (kg/dia), com maior consumo para os machos. Entretanto, quando expresso em função do peso corporal, não houve efeito ($P > 0,05$). Não houve efeito de classe sexual ($P > 0,05$), mas houve efeito

linear positivo de níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre os consumos de proteína bruta e de NDT (Tabela 2).

Não houve efeito de classe sexual ($P > 0,05$) sobre as digestibilidades totais nem sobre o teor de NDT. Houve efeito linear positivo ($P < 0,05$) apenas sobre as digestibilidades totais de PB e de FDN_{cp} (Tabela 3).

Tabela 2 – Efeito de classe sexual e de níveis dietéticos de proteína bruta sobre o consumo de nutrientes

Item ¹	Classe sexual								EPM ²	Valor-P ²				
	Fêmea				Macho					CSxPB	CS	Contrastes		
	Níveis dietéticos de proteína bruta (%)											L	Q	C
	9	11	13	15	9	11	13	15						
Consumo (kg/dia)														
MS	5,27	5,68	5,95	6,59	6,30	7,01	7,63	6,08	0,621	0,255	0,170	0,283	0,225	0,661
MO	4,77	5,35	5,22	5,68	6,00	6,46	7,04	5,66	0,685	0,571	0,117	0,622	0,321	0,851
MOD	3,37	4,01	3,78	4,31	4,19	4,68	5,08	5,00	0,419	0,828	0,059	0,065	0,556	0,623
PB	0,46	0,59	0,72	0,86	0,53	0,66	0,91	1,03	0,074	0,723	0,119	<0,001	0,970	0,558
EE	0,10	0,10	0,12	0,11	0,11	0,14	0,15	0,13	0,012	0,664	0,098	0,107	0,077	0,438
FDN _{cp}	1,76	1,94	2,07	1,99	2,27	2,30	2,62	2,44	0,162	0,890	0,029	0,098	0,274	0,289
CNF	2,62	2,53	2,72	3,16	2,98	3,45	3,60	2,89	0,355	0,200	0,235	0,406	0,465	0,775
NDT	3,53	3,44	4,24	4,82	4,25	4,62	5,12	4,53	0,373	0,189	0,083	0,005	0,711	0,192
Consumo (g/kgPC) ³														
MS	17,7	16,9	18,9	22,6	18,3	20,9	21,3	18,3	2,04	0,219	0,210	0,824	0,863	1,77
FDN _{cp}	5,9	6,4	7,0	6,8	6,7	6,9	6,4	4,8	0,74	0,255	0,595	0,253	0,728	0,59

¹MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; MOD: matéria orgânica digerida; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN_{cp}: fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF: carboidratos não fibrosos; NDT: nutrientes digestíveis totais.

²EPM: erro-padrão da média; CSxPB: efeito de interação classe sexual-níveis dietéticos de proteína bruta; CS: efeito de classe sexual; L: efeito linear; Q: efeito quadrático; C: efeito cúbico de níveis dietéticos de proteína bruta.

³PC: peso corporal.

Tabela 3 – Efeito de classe sexual e de níveis dietéticos de proteína bruta sobre a digestibilidade total dos nutrientes e o teor de NDT

Item ¹	Classe sexual								EPM ²	Valor-P ²				
	Fêmea				Macho					CSxPB	CS	Contrastes		
	Níveis dietéticos de proteína bruta (%)											L	Q	C
	9	11	13	15	9	11	13	15						
g/kg														
MS	688,5	672,1	695,6	728,1	673,7	693,3	704,5	683,6	28,80	0,679	0,745	0,348	0,920	0,769
MO	709,5	749,7	724,6	759,5	705,1	725,5	728,3	747,3	24,65	0,922	0,712	0,105	0,917	0,263
PB	621,8	644,8	710,3	726,4	567,55	624,00	656,6	701,2	39,04	0,955	0,238	0,008	0,870	0,823
FDN _{cp}	572,8	572,3	588,5	655,0	599,9	617,4	645,4	657,2	34,81	0,828	0,342	0,044	0,508	0,971
EE	793,3	721,8	709,2	748,8	844,2	780,0	801,7	745,3	45,48	0,639	0,326	0,112	0,290	0,481
CNF	833,9	832,8	838,4	876,45	801,44	838,80	812,35	865,95	24,40	0,804	0,533	0,050	0,374	0,221
% MS														
NDT	67,0	68,7	70,7	73,4	67,3	66,6	67,8	72,7	3,810	0,972	0,698	0,122	0,525	0,936

¹MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; MOD: matéria orgânica digerida; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN_{cp}: fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF: carboidratos não fibrosos; NDT: nutrientes digestíveis totais.

²EPM: erro-padrão da média; CSxPB: efeito de interação classe sexual-níveis dietéticos de proteína bruta; CS: efeito de classe sexual; L: efeito linear; Q: efeito quadrático; C: efeito cúbico de níveis dietéticos de proteína bruta.

Não houve efeito ($P>0,05$) de classe sexual, mas houve efeito linear positivo de níveis dietéticos de PB ($P<0,05$) sobre o consumo de N, as excreções urinárias de N-total, ureia, N-ureico, ureia filtrada e reabsorvida e N retido, expressos em g/dia, sobre a concentração plasmática de N-ureico em mg/dL e sobre as relações NU:NT e excreção fracional de ureia. A excreção fecal de N foi maior em machos do que em fêmeas ($P<0,05$) e foi ampliada linearmente ($P<0,05$) pelos níveis dietéticos de PB, enquanto o N retido, em % de N ingerido, não diferiu entre as classes sexuais ($P>0,05$) nem entre os níveis dietéticos de PB ($P>0,05$), sendo em média 26,05 % de g de N retido/g de N ingerido (Tabela 4).

Não houve efeito de classe sexual ($P>0,05$) ou de níveis dietéticos de PB ($P>0,05$) sobre a excreção urinária de creatinina cuja média foi de 23,2 mg/kg PC, nem sobre a taxa de filtração glomerular (TFG), expressa em mL de plasma filtrado por unidade de tempo por kg de PC, que foi em média 1,84 mL/min/kg PC (Tabela 4).

Tabela 4 – Efeito de classe sexual e de níveis dietéticos de proteína bruta sobre o balanço de N, a excreção urinária, a função renal e o manuseio de ureia

Item	Classe sexual								EPM ¹	Valor- P ¹				
	Fêmea				Macho					CSxPB	CS	Contrastes		
	Níveis dietéticos de proteína bruta (%)											L	Q	C
	9	11	13	15	9	11	13	15						
N (g/dia)														
Consumo	72,83	94,44	115,67	137,28	84,72	105,02	145,56	164,79	11,69	0,721	0,119	<0,001	0,970	0,547
Fecal	26,04	29,38	31,75	36,87	36,69	41,86	50,25	53,21	4,784	0,821	0,018	0,011	0,975	0,865
N-total urinário	23,67	41,03	46,90	61,94	26,71	35,76	63,95	72,32	6,589	0,339	0,326	<0,001	0,870	0,643
Retido	23,11	24,03	32,76	38,47	21,05	27,41	31,35	41,31	7,394	0,976	0,909	0,040	0,710	0,961
Nretido/Ningerido (%)	31,68	25,45	28,78	27,13	25,15	23,99	22,46	23,74	6,201	0,919	0,502	0,734	0,607	0,650
Excreção urinária														
Creatinina (mg/kg PC)	26,18	27,43	26,35	27,04	22,37	20,19	24,4	26,7	2,367	0,459	0,230	0,187	0,585	0,883
Ureia (g/dia)	24,71	49,60	68,82	91,47	19,71	41,37	72,16	135,90	10,490	0,086	0,407	<0,001	0,184	0,593
N-Ureia (g/dia)	11,52	23,11	32,07	42,62	9,19	19,28	33,63	63,33	4,889	0,086	0,407	<0,001	0,184	0,593
NU:NT	0,50	0,55	0,69	0,69	0,35	0,55	0,60	0,88	0,066	0,064	0,870	<0,001	0,893	0,594
Função Renal														
N-ureico plasmático (mg/dL)	8,94	17,31	17,10	21,40	10,11	12,33	16,33	20,61	1,21	0,187	0,306	<0,001	0,583	0,184
TFG (mL/min/kg PC)	1,81	2,22	2,14	2,01	1,63	1,35	1,62	1,90	0,226	0,112	0,232	0,073	0,944	0,897
Manuseio Renal de Ureia														
Filtrada (g/dia)	138,53	279,35	319,76	395,28	178,90	171,40	318,03	358,55	46,725	0,331	0,654	0,002	0,869	0,586
Reabsorvida (g/dia)	108,63	226,94	247,83	305,32	161,16	114,72	235,54	284,93	45,758	0,301	0,694	0,009	0,761	0,646
Excreção fracional	0,20	0,23	0,25	0,23	0,08	0,27	0,26	0,41	0,117	0,231	0,745	0,049	0,626	0,481

¹: EPM: erro-padrão da média; CSxPB: interação classe sexual-níveis dietéticos de proteína bruta; CS: efeito de classe sexual; L: efeito linear; Q: efeito quadrático; C: efeito cúbico de níveis dietéticos de proteína bruta.

A seguinte equação foi obtida considerando-se a excreção urinária de ureia (\hat{Y} , g/dia) em função da ingestão de N (X , g/dia): $\hat{Y} = 0,5606X$ (Figura 1). Relacionando-se a concentração de plasmática de N-ureico (\hat{Y} , mg/dL) e a ingestão de N (X , g/dia), obteve-se a seguinte regressão: $\hat{Y} = 0,1234X$ (Figura 2).

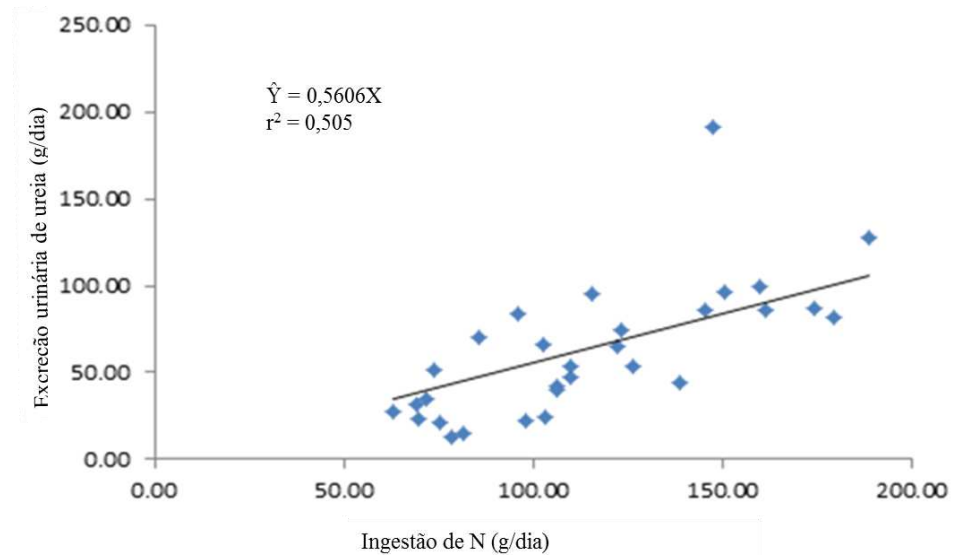


Figura 1 - Excreção urinária de ureia (\hat{Y} , g/dia) em função da ingestão de N (X , g/dia) em bovinos Nelore.

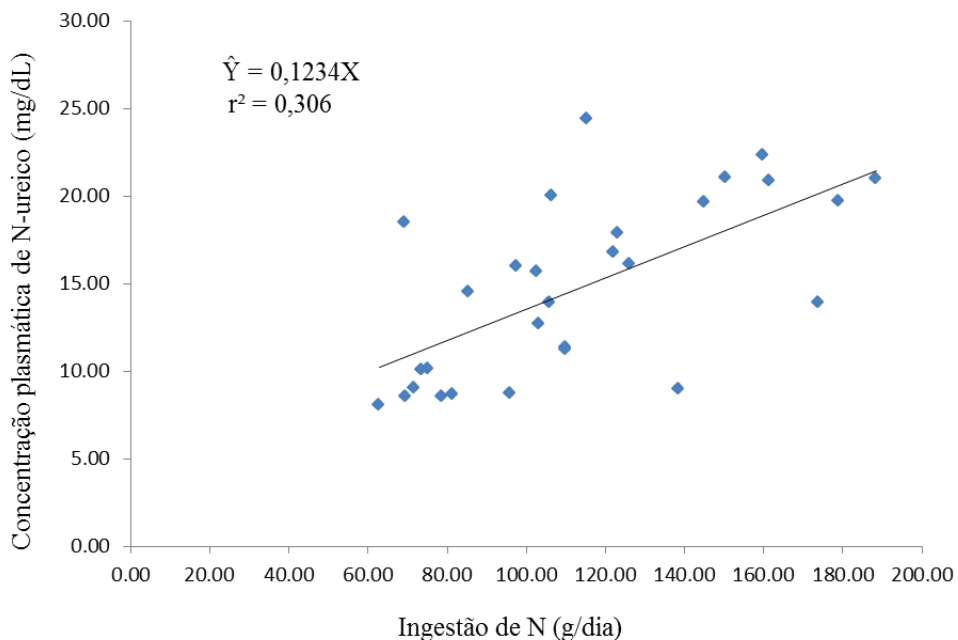


Figura 2 – Concentração plasmática de N-ureico (\hat{Y} , mg/dL) em função da ingestão de N (X , g/dia) em bovinos Nelore.

Quando a excreção urinária de ureia (\hat{Y} , g/dia) foi relacionada à concentração plasmática de N-ureico (X, mg/dL), obteve-se a seguinte equação: $\hat{Y} = 3,9293X$ (Figura 3).

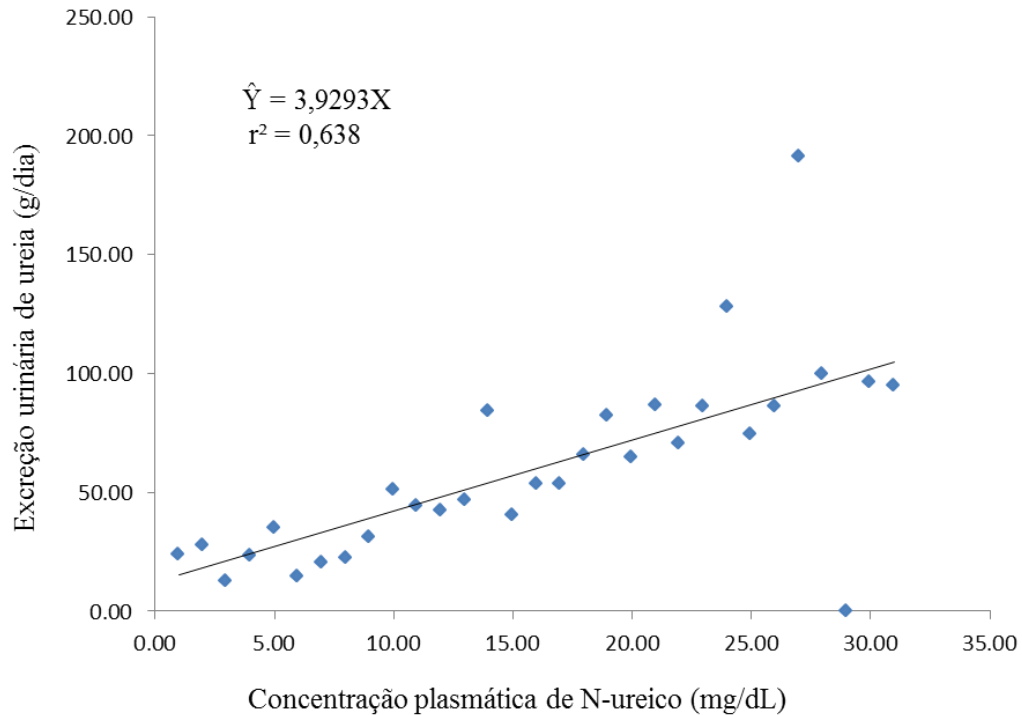


Figura 3 – Excreção urinária de ureia (\hat{Y} , g/dia) em função da concentração plasmática de N-ureico (X, mg/dL) em bovinos Nelore.

A relação obtida entre a excreção fracional de ureia em função da ingestão de N foi: $\hat{Y} = 0,3684(1 - e^{-0,0105X})$, em que \hat{Y} representa a excreção fracional de ureia e X representa a ingestão de N (g/dia) (Figura 4). Estimou-se que a excreção fracional de ureia maximiza-se ($P > 0,05$) a partir do consumo de 95,5g N/dia.

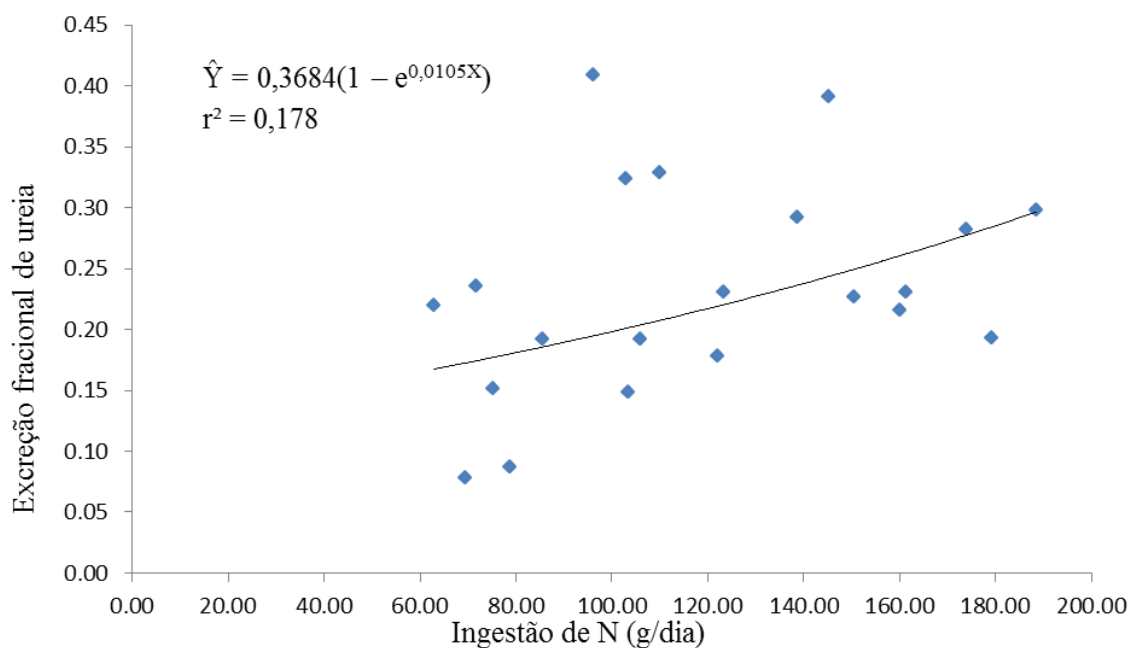


Figura 4 – Excreção fracional de ureia (\hat{Y}) em função da ingestão de N (X, g/dia) em bovinos Nelore.

Não houve efeito individual de classe sexual ($P > 0,05$), mas houve efeito linear crescente de níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre a produção de N-microbiano. Não houve efeito de níveis dietéticos de PB ($P > 0,05$) sobre a eficiência microbiana expressa em g de Nmic/g de N ingerido, g de PBmic/kg de NDT e g de PBmic/kg de MOD. Entretanto, houve efeito de classe sexual ($P < 0,05$) para a eficiência microbiana expressa g de PBmic/kg de MOD com maiores valores para fêmeas (Tabela 5).

Tabela 5 – Efeito de classe sexual e de níveis dietéticos de proteína bruta sobre produção de N microbiano e eficiência microbiana

Item ¹	Classe sexual								EPM ²	Valor-P ²				
	Fêmea				Macho					CSxP B	CS	Contrastes		
	Níveis dietéticos de proteína bruta (%)											L	Q	C
	9	11	13	15	9	11	13	15						
Nmic (g/dia)	68,99	77,68	87,77	95,04	56,49	83,58	95,87	100,59	6,768	0,534	0,758	0,004	0,333	0,952
Nmic/Ning	0,948	0,760	0,697	0,710	0,690	0,995	0,593	0,613	0,063	0,097	0,319	0,023	0,700	0,075
N degr. ingerido (g/dia) ³	48,0	64,5	81,0	97,9	55,9	71,8	101,9	117,53	8,134	0,698	0,117	<0,001	0,992	0,553
PBmic/NDT	122,6	140,7	122,2	123,2	84,3	124,5	110,8	127,3	10,129	0,377	0,111	0,220	0,272	0,131
PBmic/MOD	129,9	166,3	136,3	140,8	84,2	122,5	105,0	126,4	15,949	0,804	0,041	0,359	0,392	0,171

¹Nmic: produção de N microbiano, g de N/dia; Nmic/Ning: relação g de Nmic/g de N ingerido; N degr.ingerido: g de N degradado ingerido; PBmic/NDT: relação g de proteína bruta microbiana/kg NDT; PBmic/MOD: relação g de PBmic/ kg de matéria orgânica digerida.

²: EPM: erro-padrão da média; CSxPB interação classe sexual-níveis dietéticos de proteína bruta; CS: efeito de classe sexual; L: efeito linear; Q: efeito quadrático; C: efeito cúbico de níveis dietéticos de proteína bruta.

³g de N ingerido em função da PDR das dietas, conforme Tabela 1.

Considerando-se as variáveis PBmic, N fecal, N urinário, N ingerido, expressas em g/dia, os consumos de PB e NDT, em kg/dia, e PC dos animais, em kg, foram ajustadas as regressões, com intercepto, coeficientes e R², apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Regressões múltiplas de PBmic e excreções diárias de N fecal e urinário em função dos consumos de NDT, de N e do PC de bovinos Nelore

Item ¹	Intercepto	Coeficientes ²				R ²
		CNDT	CPB	N ingerido	PC	
PBmic	179,98	37,6030	0,2577	-	-	0,889
N fecal	-46,8070	3,0662	-	0,1579	0,1697	0,962
N urinário	-1,8803	-7,6528	-	0,5401	-	0,922

¹: PBmic: produção de PB microbiana, em kg/dia; N fecal: excreção de N nas fezes, em g/dia; N urinário: excreção urinária de N-total, em g/dia.²: Coeficientes de regressão considerando as variáveis: CNDT: consumo de NDT, em kg/dia; CPB: consumo de PB, em kg/dia; N ingerido: consumo de N, em g/dia; PC: peso corporal médio de fêmeas e machos Nelore.

Considerando-se a produção de Nmic e a ingestão de N, obteve-se a seguinte regressão: $\hat{Y} = 36,51 + 0,405X$, em que \hat{Y} representa a produção de Nmic (g/dia) e X representa a ingestão de N (g/dia) (Figura 5).

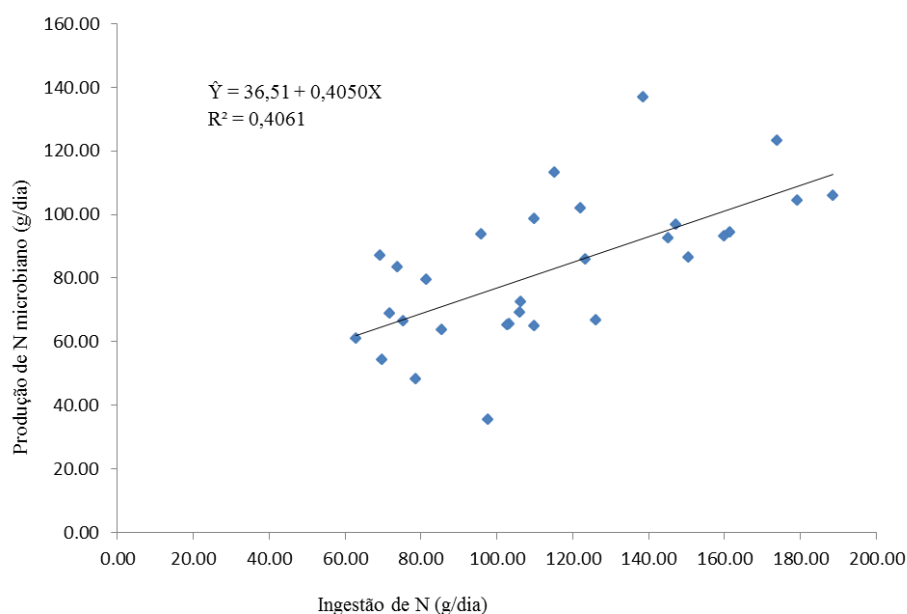


Figura 5 – Produção de Nmic (\hat{Y} , g/dia) em função da ingestão de N (X, g/dia) em bovinos Nelore.

Não houve efeito de classe sexual ($P>0,05$) sobre a concentração de NH_3 ruminal, os teores de $^{15}\text{N-NH}_3$ ruminal e os teores e a excreção diária de ^{15}N fecal. Houve efeito linear crescente de níveis dietéticos de PB ($P<0,05$) sobre a concentração de NH_3 ruminal, os teores de $^{15}\text{N-NH}_3$ ruminal e os teores ^{15}N nas fezes. Entretanto, não houve efeito dos níveis dietéticos de PB ($P>0,05$) sobre a excreção diária de ^{15}N fecal sendo em média 17,75 mg/dia (Tabela 7).

Tabela 7 – Efeito de classe sexual e de níveis dietéticos de proteína bruta sobre as concentrações de amônia e teores de ¹⁵N-amônia no rúmen e excreção fecal de ¹⁵N

Item	Classe sexual								EPM ¹	Valor-P ¹				
	Fêmea				Macho					CSxPB	CS	Contrastes		
	Níveis dietéticos de proteína bruta (%)											L	Q	C
	9	11	13	15	9	11	13	15						
NH ₃ (mg/L)	28,22	61,74	102,39	129,83	25,15	60,55	120,12	137,41	15,084	0,852	0,729	<0,001	0,531	0,312
¹⁵ N-NH ₃ (% N-NH ₃)	0,094	0,056	0,049	0,033	0,100	0,053	0,018	0,018	0,012	0,350	0,385	<0,001	0,039	0,792
¹⁵ N fecal (% N fecal)	0,073	0,056	0,042	0,037	0,056	0,059	0,042	0,024	0,006	0,190	0,373	<0,001	0,541	0,381
¹⁵ N fecal (mg/dia)	18,33	17,33	13,29	13,78	19,43	25,48	21,80	12,56	3,676	0,454	0,262	0,101	0,204	0,610

¹: EPM: erro-padrão da média; CSxPB interação classe sexual-níveis dietéticos de proteína bruta; CS: efeito de classe sexual; L: efeito linear; Q: efeito quadrático; C: efeito cúbico de níveis dietéticos de proteína bruta.

Relacionando-se a concentração ruminal de amônia (\hat{Y} , mg/dL) ou os teores de $^{15}\text{N-NH}_3$ (\hat{Y} , %) em função da ingestão de N (X , g/dia), ajustaram-se as regressões exponenciais $\hat{Y} = 23,6183e^{0,0104X}$ e $\hat{Y} = 0,2416 e^{-0,0145X}$, respectivamente (Figuras 6 e 7).

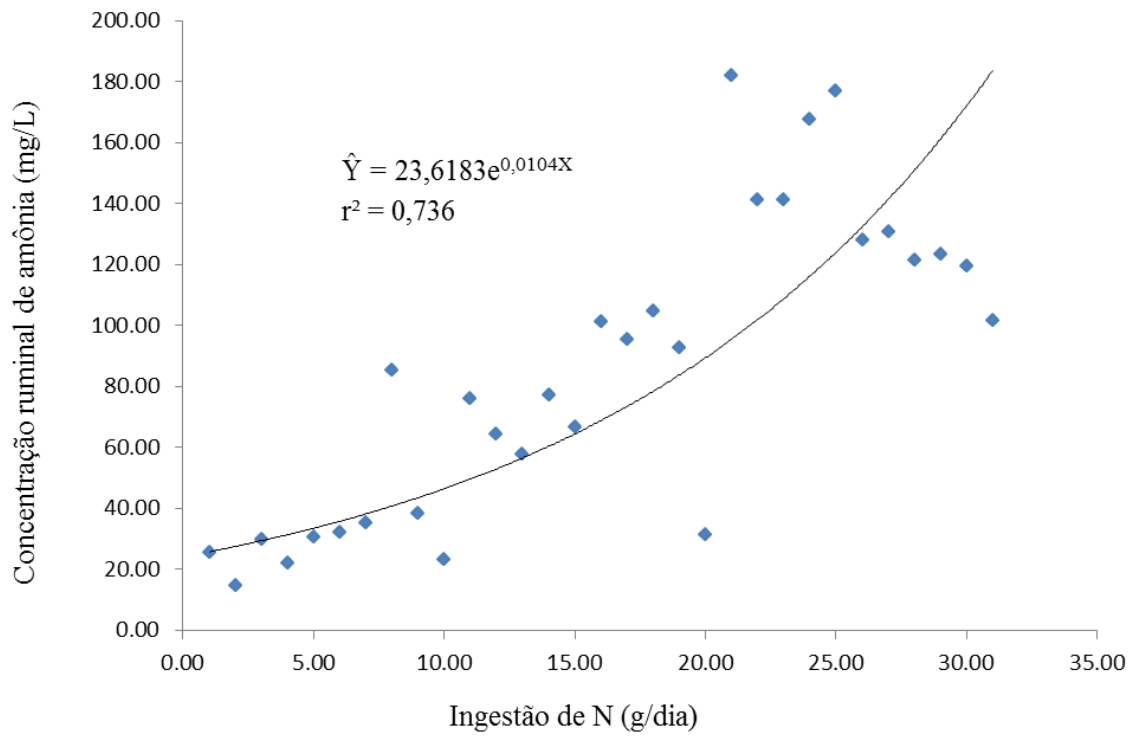


Figura 6 – Concentração ruminal de amônia (\hat{Y} , mg/L) em função da ingestão de N (X , g/dia) em bovinos Nelore.

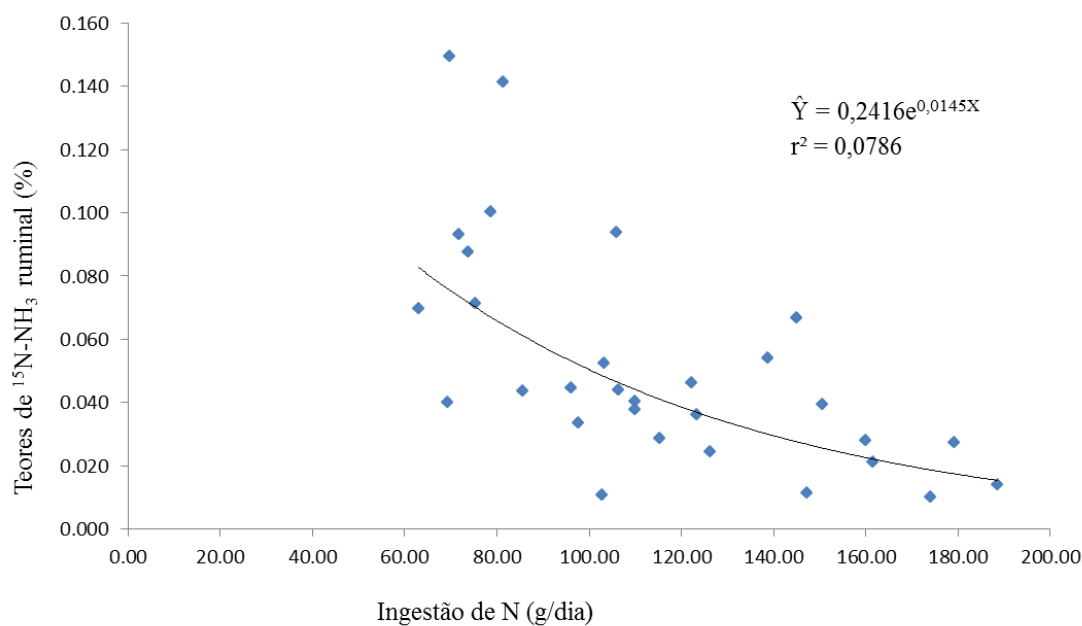


Figura 7 – Teores de $^{15}\text{N-NH}_3$ ruminal (\hat{Y} , %) em função da ingestão de N (X , g/dia) em bovinos Nelore.

Os teores de ^{15}N fecal foram avaliados em função da ingestão de N, obtendo-se a seguinte regressão: $\hat{Y} = 0,08878 - 0,00034X$, em que \hat{Y} representa os teores de ^{15}N fecal (%) e X representa a ingestão de N, expressa em g/dia (Figura 8).

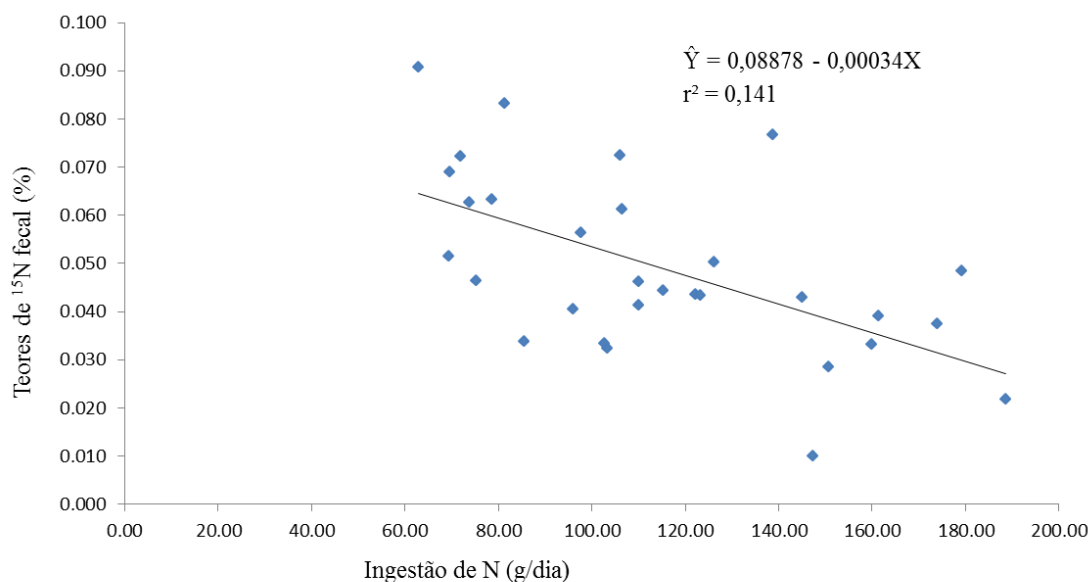


Figura 8 – Teores de ^{15}N excretado nas fezes (\hat{Y} , %) em função da ingestão de N (X , g/dia) em bovinos Nelore.

Não houve interação tripla ($P>0,05$) entre as classes sexuais, os níveis dietéticos de PB e as fases de bactérias, BAL e BAP sobre os teores de N-total microbiano nem sobre os teores de ^{15}N nas bactérias ruminais, nem diferença ($P>0,05$) entre as fases BAL e BAP para as variáveis quantificadas. As interações duplas entre as variáveis independentes não foram significativas ($P>0,05$), assim como os efeitos individuais ($P>0,05$), com exceção dos níveis dietéticos de PB sobre os teores de N-total e de ^{15}N nas bactérias ruminais. Houve efeito cúbico ($P<0,05$) dos níveis dietéticos de PB sobre os teores de N-total microbiano e efeito quadrático ($P<0,05$) sobre os teores de ^{15}N nas bactérias ruminais. Foram ainda observados efeito linear decrescente dos níveis dietéticos de PB ($P<0,05$) sobre a produção diária de $^{15}\text{N}_{\text{mic}}$ expressa em mg/dia (Tabela 8).

Tabela 8 – Efeito de classe sexual e níveis dietéticos de proteína bruta sobre o teor de N-total e de ¹⁵N nas bactérias ruminais isoladas das fases BAL e BAP e a incorporação de ¹⁵N no Nmic

Item ¹	Classe sexual								EPM ²	Valor- P ²								
	Fêmea				Macho					CSxPBxF	PBxF	CSxF	CSxPB	F	CS	Contrastes		
	Níveis de dietéticos de proteína bruta (%)															L	Q	C
	9	11	13	15	9	11	13	15										
N-total																		
BAL	7,40	7,59	7,05	7,83	6,85	7,36	7,18	7,60	2,259	0,910	0,644	0,106	0,694	0,482	0,909	0,040	0,891	0,027
BAP	6,91	7,30	7,10	7,41	6,92	7,63	7,38	7,51	2,259									
¹⁵ N																		
BAL	0,105	0,066	0,045	0,033	0,110	0,090	0,045	0,050	0,013	0,931	0,593	0,607	0,794	0,937	0,275	<0,001	<0,0001	0,582
BAP	0,126	0,062	0,036	0,036	0,118	0,074	0,044	0,045	0,013									
mg/dia																		
¹⁵ Nmic	76,10	51,07	33,63	32,73	62,23	72,10	42,33	42,25	11,83	-	-	-	0,530	-	0,345	0,038	0,686	0,320

¹: N-total: % na MS; ¹⁵N: percentagem de ¹⁵N no N-total das bactérias ruminais; ¹⁵N mic: ¹⁵N nas bactérias ruminais em mg/dia.

²:EPM: erro-padrão da média; CSxPBxF: interação classe sexual-níveis dietéticos de proteína bruta-fases; PBxF: interação níveis dietéticos de proteína bruta -fases; CSxF: interação classe sexual-fases; x interação classe sexual- níveis dietéticos de proteína bruta; F: efeito de fase; CS: efeito de classe sexual; ; L: efeito linear; Q: efeito quadrático; C: efeito cúbico de níveis dietéticos de proteína bruta.

Relacionando-se os teores de ^{15}N nas bactérias ruminais (\hat{Y} , %) em função dos teores de $^{15}\text{N-NH}_3$ ruminal (X , %), as seguintes regressões foram obtidas para BAL e para BAP, respectivamente: $\hat{Y} = 1,0740X$ e $\hat{Y} = 1,0512X$ (Figura 9).

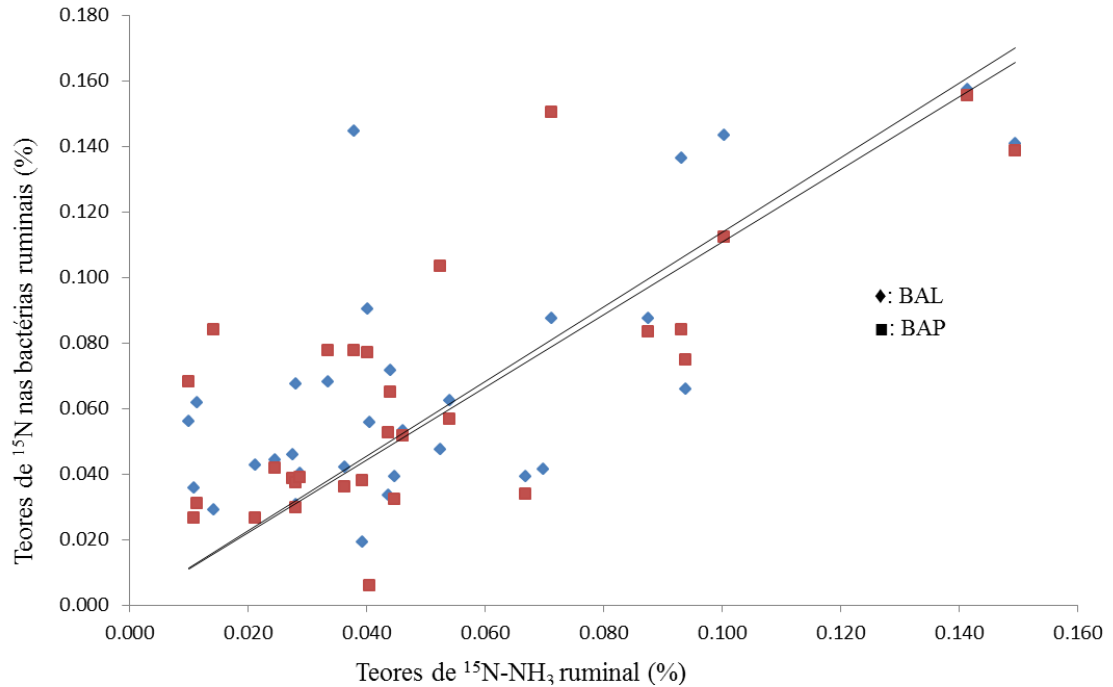


Figura 9 – Teores de ^{15}N em cada fase das bactérias ruminais (\hat{Y} , %) em função dos teores de $^{15}\text{N-NH}_3$ ruminal (X , %) em bovinos Nelore. (♦) $\hat{Y} = 1,074X$ $r^2 = 0,503$ e (■) $\hat{Y} = 1,0512X$ $r^2 = 0,528$.

Quando os teores de ^{15}N fecal (\hat{Y} , %) foram relacionados aos teores de ^{15}N (X ,%) nas bactérias ruminais, as regressões $\hat{Y} = 0,2927X$ e $\hat{Y} = 0,26668X$ foram obtidas para BAL e BAP, respectivamente (Figura 10).

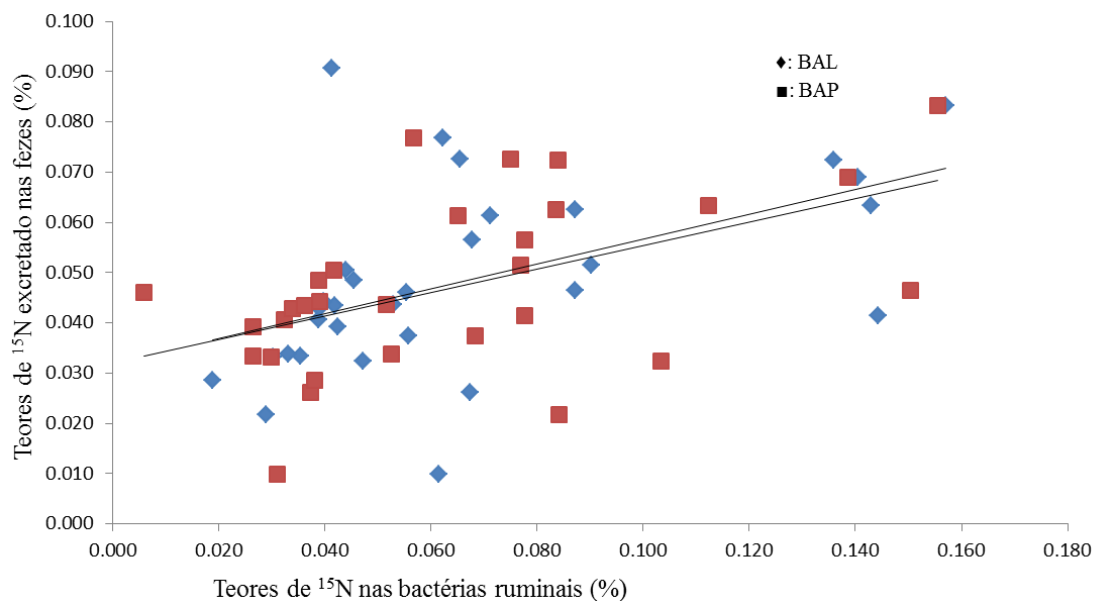


Figura 10 – Teores de ¹⁵N fecal (\hat{Y} , %) em função dos teores de ¹⁵N nas bactérias ruminais (X , %) em bovinos Nelore. (♦) $\hat{Y} = 0,2927X$ $r^2 = 0,259$ e (■) $\hat{Y} = 0,2668X$ $r^2 = 0,264$.

Não houve efeito individual de classe sexual ($P > 0,05$) sobre os percentuais do ¹⁵N infundido no plasma que foi recuperado nas fezes e nas bactérias. Também não houve efeito dos níveis dietéticos de PB ($P > 0,05$) sobre o percentual do ¹⁵N infundido no plasma recuperado nas fezes, sendo em média de 8,06%. Entretanto, houve efeito linear decrescente dos níveis dietéticos de PB ($P < 0,05$) sobre os percentuais recuperados nas bactérias (Tabela 9).

Tabela 9 – Recuperação nas fezes e nas bactérias de ¹⁵N infundido intravenosamente

Item ¹	Classe sexual								EPM ²	Valor- P ²				
	Fêmea				Macho					CSxPB	CS	Contrastes		
	Níveis de proteína bruta dietética (%)											L	Q	C
	9	11	13	15	9	11	13	15						
¹⁵ N fezes	8,33	7,90	6,06	6,25	8,81	11,58	9,90	5,68	1,670	0,459	0,264	0,101	0,200	0,610
¹⁵ N bactérias	35,23	23,65	15,55	15,13	28,83	33,38	19,63	19,55	5,49	0,579	0,483	0,011	0,688	0,321

¹: ¹⁵N fezes: % de ¹⁵N infundido recuperado nas fezes; ¹⁵N bactérias: % de ¹⁵N infundido recuperado nas bactérias ruminais.

²: EPM: erro-padrão da média; CSxPB interação classe sexual-níveis de proteína bruta dietética; CS: efeito de classe sexual; L: efeito linear; Q: efeito quadrático; C: efeito cúbico de níveis de proteína bruta dietética.

4. DISCUSSÃO

O aumento linear no consumo de PB acompanhou os níveis crescentes de proteína bruta nas dietas experimentais, com consumos médios de 625 e 750 g/dia para fêmeas e machos, respectivamente, próximos aos valores de 648,81 e 763,37 g/dia, respectivamente, para animais de 300 a 350 kg de PC com ganho médio diário de 0,5 kg sugeridos pelas Tabelas Brasileiras de Exigências Nutricionais de Zebu, BR-CORTE (Valadares Filho et al., 2010). O aumento no consumo de PB, por sua vez, poderia contribuir com o aumento verificado no consumo de NDT, uma vez que a estimativa de NDT consiste em um sistema somativo, em que cada grupo de componentes químicos (PB, EE, CNF e FDN) com potencial para contribuição energética contribui para o valor final (Detmann et al., 2008).

O maior consumo de FNDcp (kg/dia) para os machos pode ser atribuído ao peso desses animais em relação às fêmeas já que não houve esse efeito quando o consumo de FNDcp foi expresso em função do PC. Resultado também observado por Amaral et al. (2014) trabalhando com novilhos cruzados holandês x zebu alimentados com dois níveis de PB e por Vêras et al. (2007a) trabalhando com fêmeas e machos Nelore alimentados com quatro níveis de PB na dieta. Vêras et al. (2007a) ainda observaram aumento no consumo diário de PB e NDT. Davies et al. (2013) não observaram diferença no consumo da FDN, em kg/dia, em novilhas de corte *Bos taurus* (Speckle Park) alimentadas com dietas de baixo teor de PB e dois níveis de PDR.

A maior digestibilidade aparente total de PB observada com o aumento nos níveis dietéticos de PB também foi observada por Amaral et al. (2014) e se explica pela progressiva diminuição da proporção de N metabólico fecal nos compostos nitrogenados fecais (Valadares et al., 1997a) quando o consumo de PB é aumentado. O aumento na digestibilidade aparente total da FDNcp com o aumento dos níveis de PB na dieta também foi observado em novilhas e vacas holandesas (Zanton & Heinrichs, 2009; Fanchone et al., 2013), em bovinos Nelore (Vêras et al., 2007a), podendo estar relacionado ao aumento no consumo de PB, que estimularia a

digestibilidade da fibra através do aumento na disponibilidade de amônia no rúmen (Russell et al., 1992; Griswold et al., 1996; Archibeque et al., 2001). Essa maior disponibilidade de compostos nitrogenados pode acarretar em maior remoção de resíduos não degradados e aumentar o turnover da fibra no rúmen (Detmann et al., 2009), disponibilizando substratos para o crescimento microbiano.

O maior consumo de N, com o aumento nos níveis dietéticos de PB, resultou em maiores excreções fecal e urinária de N, o que também foi observado por Wickersham et al. (2008) trabalhando com novilhos cruzados Angus x Hereford alimentados com feno de baixa qualidade e níveis crescentes de caseína como fonte de PDR. Quando o consumo de N, como caseína, foi aumentado, Bailey et al. (2012a) também observaram aumento tanto na excreção fecal quanto na urinária para novilhos Angus cruzados. A variação na excreção fecal de N poderia estar associada ao aumento na produção de proteína microbiana, uma vez que, segundo o NRC (1996), 20% do N microbiano é indigestível e poderia ser excretado nas fezes (Wickersham et al., 2008) ou pode ser influenciado pelo local ou pela extensão da fermentação dos carboidratos, contribuindo para o fornecimento de nutrientes para o crescimento microbiano e, conseqüentemente aumento na excreção de N fecal, como N microbiano indigestível (Koenig & Beauchemin, 2013).

Aumentos no N retido, em g/dia, com aumento nos níveis dietéticos de PB também foram observados por Vêras et al. (2007b) quando fêmeas e machos Nelore foram alimentados com níveis crescentes de PB e por Brake et al. (2010), que observaram aumento no consumo, na excreção urinária e na retenção de N em novilhos *Bos taurus* alimentados com três níveis de PB, sendo que esse aumento poderia estar associado à maior disponibilidade de N microbiano (Bailey et al., 2012). Contudo, a ausência de efeito dos níveis de PB dietético sobre o N retido em função do N ingerido pode ser reflexo da regulação renal sobre a excreção de compostos nitrogenados, uma vez que a excreção urinária de N está diretamente relacionada ao consumo de N (Starke et al., 2012). Isso poderia sugerir que o aumento no teor de N na dieta, não necessariamente reflete-se em ganho de massa muscular, mas em maior excreção de N no meio ambiente. Entretanto, Chizzotti et

al. (2007) observaram aumento no N retido expresso em g/dia e em função do N ingerido em animais cruzados Nelore x Red Angus alimentados com concentrados de diferentes teores proteicos. Essa diversidade de resultados para o N retido poderia então ser consequência da maneira como o balanço de N é obtido, uma vez que sua determinação por diferença poderia acumular erros de análises subestimando ou superestimando essa variável (Kohn et al., 2005; Fanchone et al., 2014).

A constância na excreção diária de creatinina está em acordo com outros resultados encontrados na literatura que demonstraram que essa excreção não é influenciada por diferentes níveis proteicos dietéticos ou tipo de proteína ofertada (Valadares et al., 1997a; Valadares et al., 1999; Marini & Van Amburgh, 2003; Brake et al., 2010), sendo a massa muscular, que está diretamente correlacionada ao peso corporal, seu principal determinante (Chizzotti et al., 2008; Pereira, 2009). Barbosa et al. (2006) relataram excreção urinária de creatinina média de 27,1 mg/kg PC, sem diferença entre novilhas e novilhos Nelore alimentados com dois níveis de concentrado. Rennó et al. (2000) observaram o valor médio de 21,57 mg/kg PC para a excreção urinária diária de creatinina em novilhos Nelore alimentados com quatro níveis de PB, enquanto Zanton & Heinrichs (2009) observaram excreção urinária de creatinina média de 24, 2 mg/kg PC, sugerindo ausência de efeito do nível de ingestão de PB. Considerando-se que a relação entre massa muscular e PC é alométrica e a excreção urinária de creatinina é linearmente relacionada à massa muscular, a relação excreção de creatinina: PC também deveria ser alométrica, com isso, Costa & Silva et al. (2012) ajustaram a excreção urinária de creatinina (UCE – urinary creatinine excretion), expressa em g/dia, em função do peso corporal em jejum (SBW – shrunk body weight), expresso em kg, na seguinte regressão alométrica: $UCE = 0,0345 \times SBW^{0,9491}$.

Os aumentos lineares nas excreções urinárias de ureia e N-ureico podem ser explicados pelo aumento dos níveis dietéticos de PB, disponibilizando mais amônia no rúmen, que poderia ser utilizada pelos microrganismos ou absorvida ao longo do TGI. A amônia absorvida é captada pelo fígado e, através do ciclo da ornitina-ureia,

é convertida em ureia, que representa a principal forma de excreção urinária de compostos nitrogenados (Hameyer & Martens, 1980; Koenig & Beauchemin, 2013). O aumento nas excreções diárias de ureia e N-ureia com o aumento da PB dietética foi observado em novilhos Nelore (Valadares et al., 1997a; Rennó et al., 2000) e em vacas holandesas (Kristensen et al., 2010).

À medida que os níveis de proteína bruta dietética aumentaram, o N-ureico representou maior percentual da excreção do N-total, indicado pelo aumento linear na relação NU:NT. Resultados semelhantes foram descritos por Koenig & Beauchemin (2013) em novilhas Angus submetidas a quatro dietas experimentais, contendo dois níveis de PB e por Wickersham et al. (2008) utilizando animais cruzados Angus x Hereford alimentados com quatro níveis de caseína.

O aumento linear observado na concentração plasmática de ureia com o aumento dos níveis de proteína bruta dietética pode ser explicado pelo aumento no consumo diário de N, conforme descrito por Harmeyer & Martens (1980), Valadares et al. (1997a) e Muscher et al. (2010). O aumento linear na concentração sérica de N-ureico com o aumento nos níveis de PB da dieta foi descrito em novilhos cruzados British x Continental (Gleghorn et al., 2004), em vacas holandesas (Recktenwald et al., 2014) e em *Bos grunniens* (Guo et al., 2012). Entretanto, Bailey et al. (2012a) não observaram diferença significativa na concentração de plasmática de N-ureico à medida que a suplementação com caseína aumentou para novilhos Angus cruzados.

O valor de N-ureico no plasma obtido para a dieta com 15% de PB encontra-se acima dos relatados na literatura como adequados para maximizar a produção microbiana. Valadares et al. (1997b) estimaram máxima produção microbiana com 12,09% de PB na dieta para bovinos Zebu, valor inferior ao comumente utilizado na formulação de dietas para bovinos em terminação em confinamentos no Brasil que é de 13,4% PB na base da MS (Oliveira & Millen, 2014). De forma que o nível de 15% de PB na dieta encontra-se acima dos níveis geralmente utilizados para terminação de bovinos de corte.

O aumento da ureia filtrada com o aumento do teor de PB dietética pode ser atribuído ao aumento na concentração plasmática de ureia (Valadares et al., 1997a; Guo et al., 2012). Em situações de baixa disponibilidade de compostos nitrogenados na dieta, mecanismos renais de filtração e reabsorção podem ser regulados para garantir a conservação de N (Guo et al., 2012; Starke et al., 2012). O perfil da excreção fracional de ureia acompanhou o das quantidades de ureia filtrada, reabsorvida e excretada, bem como o das concentrações plasmáticas. O aumento nas concentrações plasmáticas e excreções urinária e fracional de ureia com aumento nos níveis dietéticos de PB também foram observados em bovinos Nelore (Valadares et al., 1997a; Rennó et al., 2000) e em novilhas holandesas (Marini & Van Amburgh, 2003) indicando que a principal via de eliminação dos compostos nitrogenados é a urina, e os rins desempenham importante papel na manutenção de ureia no organismo.

A relação linear crescente obtida quando a excreção urinária de ureia foi relacionada à ingestão de N, expressa em g/dia (Figura 1) também foi observada por Guo et al. (2012). Considerando-se a regressão linear obtida para a concentração plasmática de ureia, em mg/dL, e a ingestão de N, em g/dia (Figura 2), Vêras et al. (2007a) observaram o mesmo comportamento linear entre as duas variáveis, corroborando a influência direta da ingestão de compostos nitrogenados sobre a concentração plasmática de ureia. Entretanto, Marini & Van Amburgh (2005) observaram aumento exponencial de N-ureico plasmático com o aumento de PB na dieta em novilhas holandesas. A relação linear positiva obtida entre a excreção urinária de ureia, em g/ dia, e a concentração plasmática de ureia, em mg/dL (Figura 3), também foi observada por Kohn et al. (2005) em estudo para avaliar o potencial de utilização da concentração plasmática de N-ureico como preditor da taxa de excreção urinária de N. Esses resultados indicam que a excreção urinária e a concentração plasmática de ureia e a ingestão de N são altamente relacionadas (Bailey et al., 2012b).

A relação exponencial obtida entre a excreção fracional de ureia e a ingestão de N, em g/dia (Figura 4), indica máxima excreção fracional de 0,60, tornando-se constante a partir da ingestão de 95,5 g de N/dia.

O aumento linear na produção de proteína microbiana (N_{mic}) com o aumento dos níveis dietéticos de proteína bruta estão de acordo com Brake et al. (2010), Bailey et al. (2012a) e Guo et al. (2012). Esses resultados poderiam corroborar Broderick (2003) e Marini & Van Amburgh (2003) que sugeriram que o consumo de proteína bruta e o aumento na digestibilidade da fibra poderiam fornecer substrato degradável no rúmen, estimulando o crescimento microbiano. Adicionalmente, esse aumento na produção de N_{mic} poderia estar associado à maior disponibilidade de PDR, uma vez que o N degradado ingerido aumentou em 7,3% do menor para o maior nível dietético de PB. A ureia sintetizada no fígado através do ciclo da ornitina-ureia pode sofrer dois destinos: ser excretada na urina ou retornar ao TGI. Esse aumento do N degradado ingerido foi acompanhado pelo aumento de outras variáveis, como N-ureico plasmático e excreção urinária de N, que poderia sugerir menor retorno da ureia ao TGI. No presente trabalho verificou-se que a produção de N_{mic} é positiva e diretamente relacionada à ingestão de N, indicada pela regressão linear obtida (Figura 5).

As variáveis CNDT e N ingerido exerceram efeito significativo na obtenção da equação para estimar a excreção urinária de N. Waldrip et al. (2013) obtiveram as seguintes equações para a excreção urinária de N: $N_{urinario} = 0,62(N_{ingerido}) - 3,72$ (CMS) $- 3,93$ $r^2 = 0,75$ e $N_{urinario} = 0,56(N_{ingerido}) - 21,18$ $r^2 = 0,85$, e sugeriram a utilização da segunda equação por apresentar maior acurácia e melhor precisão do que a primeira equações. Esses autores também não observaram efeito significativo do PC na determinação dessas equações. Dong et al. (2014) obtiveram a regressão: $N_{urinario} = 0,51(N_{ingerido}) - 14,12$ $r^2 = 0,98$; e a proporção de N urinário no N total excretado = $0,01DATN - 0,162$ $r^2 = 0,96$, em que DATN = digestibilidade aparente total de N. A regressão para estimar a excreção fecal de N foi obtida considerando-se que as variáveis CNDT, N ingerido e PC foram significativas na análise do modelo misto. Entretanto, as equações: $N_{fecal} = 0,15(N$

ingerido) + 24,28 $r^2 = 0,61$ (Waldrip et al., 2013) e N fecal = 0,20 (N ingerido) + 15,82 $r^2 = 0,96$ (Dong et al., 2014) foram desenvolvidas para prever a excreção fecal de N, considerando-se que apenas N ingerido apresentou efeito significativo na determinação dessas equações. As equações obtidas a partir de poucos parâmetros poderiam ser utilizadas para estimar as excreções fecal e urinária de N de maneira rápida e rotineira e N ingerido pode ser a variável primária para prever a excreção de N (Dong et al., 2014).

O aumento linear observado na concentração de NH_3 ruminal com o aumento nos níveis dietéticos de PB pode ser explicado pelo aumento da ingestão de PDR, sendo NH_3 o principal produto da degradação ruminal de compostos nitrogenados (Huntington & Archibeque, 1999; Brake et al., 2010; Bailey et al., 2012a). Rennó et al. (2008) observaram aumento na concentração de N- NH_3 ruminal em animais cruzados Holandês x Zebu alimentados com níveis crescentes de nitrogênio não-proteico, resultado também observado por Fanchone et al. (2013) quando vacas holandesas foram alimentadas com níveis dietéticos crescente de PB. Esse aumento na disponibilidade de NH_3 ruminal pode ser reflexo de que os requerimentos da microbiota para NH_3 foram excedidos ou a disponibilidade foi fator limitante para utilização da NH_3 para síntese microbiana (Chizzotti et al., 2008; Detmann et al., 2014).

A relação quadrática entre o teor de $^{15}\text{N-NH}_3$ no rúmen e os níveis de dietético de PB sugere maior “entrada” no rúmen de ureia proveniente do plasma ou da saliva em dietas com menor teor de PB; adicionalmente sugere que essa “entrada” vai sendo reduzida com o aumento do teor dietético de PB. Kristensen et al. (2010) observaram aumento de ureia liberada do plasma para o rúmen de vacas holandesas alimentadas com baixo teor de dietético de PB. Assim, a maior entrada de $^{15}\text{N-NH}_3$ ruminal em baixos níveis de PB na dieta poderia contribuir para o crescimento microbiano, uma vez que tanto bactérias não celulolíticas quanto celulolíticas utilizam amônia como fonte de N (Russell, 1983; Abdoum et al., 2006). Adicionalmente, pode-se observar que o crescimento microbiano não foi inibido pela concentração de 1,57mM de N- NH_3 ruminal, valor abaixo do

recomendado por Satter & Slyter (1974) de 3,57 mM de N-NH₃ para otimizar a digestão ruminal. Fanchone et al. (2003) também observaram crescimento microbiano mesmo em baixa concentração de N-NH₃ ruminal (24,6 mg/L) em dietas com baixo teor de N.

A diminuição do teor de ¹⁵N nas fezes com o aumento nos níveis de PB das dietas corrobora observações de Marini & Van Amburgh (2003) em novilhas holandesas alimentadas com cinco níveis de PB. Entretanto, essa redução pode ser decorrente da diluição do ¹⁵N nas fezes com aumento na excreção de N fecal, tanto que não houve diferença na excreção ¹⁵N fecal quando expressa em mg/dia.

A regressão ajustada entre concentração de amônia ruminal e a ingestão de N, g/dia (Figura 6), apresentou comportamento exponencial crescente, com aumento mais acentuado da concentração de amônia ruminal para a ingestão em valores próximos a 200 g de N/dia. Detmann et al. (2009) obtiveram relação linear positiva. Entretanto, a associação positiva dessas variáveis mudou em cada seção da curva com a concentração de N disponível no rúmen mais pronunciada nos níveis maiores que 109,0 g/kg MS. O efeito positivo da ingestão de N sobre a concentração de NH₃ ruminal pode estar associada ao desenvolvimento de diferentes culturas bacterianas no rúmen ou a manutenção da relação energia:compostos nitrogenados (Kennedy & Milligan, 1980), contudo, o ponto limiar em que a concentração de amônia torna-se mais intensa, pode ser devido à saturação de captura de amônia pelos microrganismos ruminais (Detmann et al., 2014).

A regressão exponencial decrescente obtida quando os teores de ¹⁵N-NH₃ ruminal, em %, foram relacionados à ingestão de N, em g/dia (Figura 7), pode indicar redução de ¹⁵N proveniente do plasma ou um efeito diluidor do ¹⁵N quando mais ¹⁴N dietético encontra-se disponível no rúmen (Lapierre & Lobley, 2001; Wickersham et al., 2008).

A regressão obtida entre os teores, em %, de ¹⁵N fecal em função do aumento da ingestão de N, em g/dia (Figura 8), foi linear decrescente, resultado semelhante

ao observado em novilhas holandesas por Marini & Van Amburgh (2005). O aumento no teor de N da dieta resulta em menor utilização da ureia reciclada para a síntese de proteína microbiana e, conseqüentemente, em menor excreção de ^{15}N fecal como resíduo microbiano não digerido (Wickersham et al., 2008) ou em maior diluição do N metabólico fecal (Marini & Van Amburgh, 2005).

Apesar de dados quantitativos indicarem que a fase BAP pode constituir uma larga proporção da população microbiana ruminal e que diferenças na composição química entre as diferentes fases da microbiota ruminal têm sido reportadas (Craig et al., 1987; Martin et al., 1994), não foi observada diferença entre BAL e BAP para quaisquer das variáveis avaliadas, sugerindo que não há necessidade em se avaliar o teor de nitrogênio e a incorporação de nitrogênio endógeno em fases da microbiota ruminal separadamente. Machado et al. (2013) trabalharam com contaminação microbiana em resíduos de forrageiras tropicais incubados no rúmen, utilizando ^{15}N como marcador e não observaram diferença na relação $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ nem no teor de N entre BAL e BAP. Brake et al. (2010) observaram maior incorporação de ^{15}N -ureico na microbiota ruminal quando os animais foram alimentados com 10,2 % de PB na dieta. Entretanto, esses autores não avaliaram essa incorporação nas bactérias ruminais separadamente. Fanchone et al. (2013) observaram redução no teor de N em BAL (7,5% para 6,8%) e BAP (7,2% para 6,5%) quando o teor de N da dieta diminuiu, contudo esses autores não avaliaram se existiam diferenças entre as duas fases. Assim como Olmos Colmenero & Broderick (2006), que observaram aumento do N-total e redução no teor de ^{15}N em ambas as fases BAL e BAP quando o teor de PB dietético aumentou, mas não compararam BAL e BAP. A composição química bacteriana representa uma importante avaliação na nutrição animal de forma que mais estudos devem ser conduzidos no intuito de se avaliar as diferenças entre BAL e BAP.

O aumento na quantidade de N-total das bactérias com o aumento nos níveis dietéticos de proteína bruta também foi observado por Guo et al. (2012) e poderia estar associado à maior disponibilidade de N para a síntese microbiana, entretanto o efeito cúbico observado é de difícil explicação biológica. Os efeitos quadráticos

observados para os teores (%) e para as quantidades (g/dia) de ^{15}N nas bactérias com os aumentos nos níveis de proteína bruta dietética também foram observados em vacas holandesas por Olmos Colmenero & Broderick (2006), em novilhos *Bos grunniens* por Guo et al. (2012) e em novilhas holandesas por Marini & Van Amburgh (2003). Os maiores teores de ^{15}N nas bactérias foram obtidos para o menor nível dietético de PB, sugerindo maior reciclagem de N-ureico nesse nível. Entretanto, Olmos Colmenero & Broderick (2006) sugeriram que a redução do ^{15}N nas bactérias com o aumento dos níveis dietéticos de PB poderia ser atribuída à diluição do $^{15}\text{N-NH}_3$ com o aumento de NH_3 formado a partir da maior degradação proteica quando a PB da dieta aumentou.

A relação linear crescente obtida entre os teores de ^{15}N nas bactérias ruminais das fases BAL e BAP e os teores de $^{15}\text{N-NH}_3$ ruminal, em % (Figura 9), sugere um paralelismo entre a disponibilidade ruminal e a captação de N- NH_3 nas bactérias. A quantidade de ^{15}N recuperado nas fezes não foi influenciada pelos teores de proteína bruta dietética, o que pode se explicar em virtude da principal via de excreção de compostos nitrogenados ser a urinária e não a fecal.

Os teores de 35,23 a 15,13% de ^{15}N infundido no plasma recuperados nas bactérias observados nos níveis de 9,0 e 15% de PB da dieta, respectivamente, em bovinos Nelore, são próximos aos observados por Al-Dehneh et al. (1997), 37,5 e 12,7%, em vacas holandesas alimentadas com alto-grão ou alta-forragem, respectivamente. Guo et al. (2012) também observaram redução linear no teor de ^{15}N reciclado que foi incorporado pela bactéria, entretanto, os valores variaram de 28,1 a 15,3 % entre os níveis 8,9 e 18,1 % de PB da dieta em *Bos grunniens*. Essa maior recuperação nas bactérias de ^{15}N infundido no plasma poderia estar associada a fatores que favorecem essa transferência de ^{15}N para o rúmen e, conseqüentemente, sua utilização pelas bactérias ruminais (Kennedy & Milligan, 1980), que poderia sugerir o significativo papel da reciclagem de ureia desempenhado especialmente em baixos níveis de ingestão proteica (Wickersham et al., 2009).

A maior recuperação de ^{15}N infundido por via intravenosa na proteína microbiana em dietas com menor teor de PB (9%) indica que há maior reciclagem de N-ureia nessa dieta do que na dieta com 11 ou 15% de PB. O NRC (1985) sugere que em dietas contendo 4% de proteína a reciclagem de ureia para o rúmen seria igual a 86% do N dietético e em dietas com teores de 12 % de proteína esse valor cairia para aproximadamente 25%. Considerando-se o teor de PDR, a quantidade de N ingerido e a produção de Nmic obtidos em cada nível dietético de PB, a eficiência de captação de N ingerido degradado no rúmen em Nmic variou de 120% a 90,28%, entre as dietas de 9% e 15% de PB, respectivamente. O BR-CORTE (2010), descrito por Valadares Filho et al. (2010) considera essa eficiência de captação de N degradado como 90%. Entretanto, é possível que em altas restrições proteicas, a utilização de N reciclado para a produção de proteína microbiana seja maior.

5. CONCLUSÃO

A produção de proteína microbiana não é afetada pela classe sexual, mas aumenta linearmente com os consumos de PB e de NDT.

BAL e BAP possuem mesmo teor de N-total e de recuperação do N-ureico infundido

As concentrações de $^{15}\text{N-NH}_3$ no rúmen e ^{15}N nas bactérias são maiores para os menores níveis de PB dietéticos.

Ocorre maior recuperação do N-ureico infundido por via intravenosa na proteína microbiana produzida em dietas com menor teor de PB.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não foram realizadas as análises de $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$; $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$; $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ -ureia na urina, apesar da permanência da doutoranda por 11 meses no laboratório do AAFC-Sherbrooke, Canada com bolsa da CAPES. O aparelho para determinação desses isótopos não funcionou durante todo o período e, até o presente momento, se encontra estragado. Assim, não se recomenda que estudantes brasileiros planejem a

realização deste tipo de análise no Dairy and Swine Research and Development Centre no Agriculture and Agri-Food Canada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-DEHNEH, A.; HUBER, J. T.; WANDELEY, R.; THEURER, C. B.; PESSARAKLI, M.; de YOUNG, D. Incorporation of recycled urea-N into ruminal bacteria flowing to the small intestine of dairy cows fed a high-grain or high-forage diet, **Animal Feed Science and Technology**, v. 68, p. 327 – 338, 1997.

AMARAL, P. M.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; SANTOS, S. A.; PRADOS, L. F.; MARIZ, L. D. S.; ALVES, L. C.; MENEZES, A. C. B.; VILLADIEGO, F. A. C.; NOVAES, M. A. S.; SALES SILVA, F. A. Effects of phase-feeding crude protein on performance and carcass characteristics of crossbred beef bulls: an application to reduce nitrogen compounds in beef cattle diets. **Tropical and Health Production**, v. 46, p. 419 – 425, 2014.

ARCHIBEQUE, S. L.; BURNS, J. C.; HUNTINGTON, G. B. Urea flux in beef steers: effects of forage species and nitrogen fertilization. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 1937 – 1943, 2001.

BAILEY, E. A.; TITGEMEYER, E. C.; OSLON, K. C.; BRAKE, D. W.; JONES, M. L. ANDERSON, D. E. Effects of supplemental energy and protein on forage digestion and urea kinetics in growing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3492 – 3504, 2012a.

BAILEY, E. A.; TITGEMEYER, E. C.; OSLON, K. C.; BRAKE, D. W.; JONES, M. L. ANDERSON, D. E. Effects of ruminal casein and glucose on forage digestion and urea kinetics in growing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3505 – 3514, 2012b.

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 urinária de creatinina, de ureia e de derivados de purina e a produção de proteína microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 870 – 877, 2006.
- BRAKE, D.W.; TITGEMEYER, E. C.; JONES, M.L.; ANDERSON, D.E. Effect of nitrogen supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming corn-based diets. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 2729 – 2740, 2010.
- BRODERICK, G. A. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1370 – 1381, 2003.
- CHIZZOTTI, F. H. M.; PEREIRA, O. G.; TEDESCHI, L. O.; VALADARES FILHO, S. C.; CHIZZOTTI, M. L.; LEÃO, M. I. PEREIRA, D. H. Effects of dietary nonprotein nitrogen on performance, digestibility, ruminal characteristics, and microbial efficiency in crossbred steers. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 1173 – 1181, 2008.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; CHIZZOTTI, F. H. M.; TEDESCHI, L. O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v. 113, p. 218–225, 2008.
- COSTA E SILVA, L. F.; VALADARES FILHO, S. C; CHIZZOTTI, M.L.; ROTTA, P. P.; PRADOS, L. F.; VALADARES, R. F. D.; ZANETTI, D.; BRAGA, J. M. S. Creatinine excretion and relationship with body weight of Nelore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p.807 – 810, 2012. (Short communication).

- CRAIG, W. M.; BROWN, D. R.; BRODERICK, G. A.; RICKER, D. B. Post-prandial compositional changes of fluid- and particle-associated ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 1042 – 1048, 1987.
- DAVIES, K. L.; MCKINNON, J. J.; MUTSVANGWA, T. Effects of dietary ruminally degradable starch and ruminally degradable protein levels on urea recycling, microbial protein production, nitrogen balance, and duodenal nutrient flow in beef heifers fed low crude protein diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 93, p. 123 – 136, 2013.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D. S.; HENRIQUES, L. T.; PAULINO, M. F.; MAGALHÃES, K. A.; SILVA, P. A.; CHIZZOTTI M. L. Prediction of the energy value of cattle diets based on the chemical composition of the feeds under tropical conditions. **Animal Feed Science and Technology**, v. 143, p. 127 – 147, 2008.
- DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; MANTOVANI, H. C.; VALADARES FILHO, S. C.; SAMPAIO, C. B.; SOUZA, M. A.; LAZZARINI, I.; DETMANN, K. S. C. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis–Menten kinetics. **Livestock Science**, v. 126, p.136–14, 2009.
- DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C. et al. **Métodos para análises de alimentos**. 1.ed. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica. 214p. 2012.
- DETMANN, E.; VALENTE, E. E. L.; BATISTA, E. D.; HUHTANEN, P. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, v. 162, p. 141 – 153, 2014.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, p. 980 – 984, 2010.

- DONG, R. L.; ZHAO, G. Y.; CHAI, L. L.; BEAUCHEMIN, K. A. Prediction of urinary and fecal nitrogen excretion by beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 4669 – 4681, 2014.
- FANCHONE, A.; NOZIÈRE, P.; PORTELLI, J.; DURIOT, B.; LARGEAU, V. DOREAU, M. Effects of nitrogen underfeeding and energy source on nitrogen ruminal metabolism, digestion, and nitrogen partitioning in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 791, p. 895 – 906, 2013.
- 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. **The Journal of Agricultural Science**, v. 109, p. 7 - 12, 1987.
- GLEGHORN, J. F.; ELAM, N. A.; GALYEAN, M. L.; DUFF, G. C.; COLE, N. A.; RIVERA, J. D. Effects of crude protein concentration and degradability on performance, carcass characteristics, and serum urea nitrogen concentrations in finishing beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2705 – 2712, 2004.
- GRISWOLD, K. E.; HOOVER, W. H.; MILLER, T. K.; THAYNE, W. V. Effect form of nitrogen on growth of ruminal microbes in continuous culture. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 483 – 491, 1996.
- GUO, X. S.; ZHANG, Y.; ZHOU, J. W.; LONG, R. J.; XIN, G. S.; QI, B.; DING, L. M.; WANG, H. C. Nitrogen metabolism and recycling in yaks (*Bos grunniens*) offered a forage–concentrate diet differing in N concentration. **Animal Production Science**, v. 52, p. 287 – 296, 2012.
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 1707 – 1728, 1980.
- HRISTOV, A. N.; McALLISTER, T. A.; OUELLET, D. R.; BRODERICK, G. A. Comparison of purine and nitrogen-15 as microbial flow markers in beef heifers

- fed barley- or corn- based diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 85, p. 211 - 222, 2005.
- HUNTINGTON, G. B.; ARCHIBEQUE, S. L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, p. 2 – 11, 1999.
- JACKSON, A. A.; PICOU, D. LANDMAN, J. The noninvasive measurement of urea kinetics in normal man by a constant infusion of [¹⁵N¹⁵N]urea. **Human Nutrition: Clinical Nutrition**, v. 38C, p. 339 – 354, 1984.
- KENNEDY, P. M.; MILLIGAN, L. P. The degradation and utilization of endogenous urea the gastrointestinal tract of ruminants: A review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 60, p. 205 – 221, 1980.
- KOENIG, K. M.; BEAUCHEMIN, K. A. Nitrogen metabolism and route of excretion in beef feedlot cattle fed barley-based backgrounding diets varying in protein concentration and rumen degradability. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 2295 – 2309, 2013.
- KOHN, R. A.; DINNEEN, M. M.; RUSSEK-COHEN, E. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 879 – 889, 2005.
- KRISTENSEN, N. B.; STORM, A. C.; LARSEN, M. Effect of dietary nitrogen content and intravenous urea infusion on ruminal and portal-drained visceral extraction of arterial urea in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2670 – 2683, 2010.
- KRIZSAN, S. J.; AHVENJÄRVI, S.; VOLDEN, H.; BRODERICK, G. A. Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1138 – 1147, 2010.

- LAPIERRE, H.; LOBLEY, G. E. Nitrogen Recycling in the Ruminant: A review. **Journal of Dairy Science**, 84 (E. Suppl.): 223 – 236, 2001.
- LOBLEY, G. E.; BREMNER, D. M.; ZUUR, G. Effects of diet quality on urea fates in sheep assessed by a refined, non-invasive [$^{15}\text{N}^{15}\text{N}$]-urea kinetics. **British Journal of Nutrition**, v. 84, p. 459 – 468, 2000.
- MACHADO, P A. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; SANTOS, S. A.; VALADARES, R. F. D.; DUCATTI, C.; ROTTA, P. P.; COSTA E SILVA, L. F. Development of equations to estimate microbial contamination in ruminal incubation residues of forage produced under tropical conditions using ^{15}N as a label. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 3836 – 3846, 2013.
- MARINI, J. C.; VAN AMBURGH, M. E. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 545 – 552, 2003.
- MARINI, J. C.; KLEIN, J. D.; SANDS, J. M.; VAN AMBURGH, M. E. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 1157 – 1164, 2004.
- MARINI, J. C.; VAN AMBURGH, M. E. Partition of nitrogen excretion in urine and the feces of Holstein replacement heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 1778 – 1784, 2005.
- MARTIN, C.; WILLIAMS, A. G. MICHALET, D. B. Isolation and characteristics of the protozoal and bacterial fractions from bovine ruminal contents. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2962 – 2968, 1994.
- McDOUGALL, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, v. 43, p. 99 – 109, 1948.
- MILANO, G. D.; HOTSTON-MOORE, A.; LOBLEY, G. E. Influence of hepatic ammonia removal on ureagenesis, amino acid utilization and energy

- metabolism in the ovine liver. **British Journal of Nutrition**, v. 83, p. 307 – 315, 2000.
- MILANO, G. D.; LOBLEY, G. E. Liver nitrogen movements during short-term infusion of high levels of ammonia into the mesenteric vein of sheep. **British Journal of Nutrition**, v.86, p. 507 – 513, 2001.
- MUSCHER, A. S.; SCHRÖDER, B.; BREVES, G.; HUBER, K. Dietary nitrogen reduction enhances urea transport across goat rumen epithelium. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3390 – 3398, 2010.
- NRC – National Research Council. **Ruminant nitrogen usage**. Washington, D.C: National Academic Press. 1985. 148 p.
- NRC – National Research Council. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C: National Academic Press. 1996. 242 p.
- NORTON, B. W.; MORAN, J. B.; NOLAN, J. V. Nitrogen metabolism in Brahman Cross, Buffalo, Bateng e Shorthorn steers fed on low-quality roughage. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 30, n. 2, p. 341 – 351, 1979.
- OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practice adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 64 – 75, 2014.
- OLMOS COLMENERO, J. J.; BRODERICK, G. A. Effect of Dietary Crude Protein Concentration on Ruminal Nitrogen Metabolism in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1694 – 1703, 2006.
- 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 Purinas e de Compostos Nitrogenados em Novilhas Nelore**. 2009. 41 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 2009.

- PRATES, L. L.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; SANTOS, S. A.; BRAGA, J. M. S.; PELLIZZONI, S. G.; BARBOSA, K. S. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives in Nellore and Holstein heifers with abomasal purine infusion. **Livestock Science**, v. 150, p. 179 – 186, 2012.
- RECKTENWALD, E. B.; ROSS, D. A.; FESSENDEN, S. W.; WALL, C. J.; VAN AMBURGH, M. E. Urea-N recycling in lactating dairy cows fed diets with 2 different levels of dietary crude protein and starch with or without monensin. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 1611 – 1622, 2014.
- RENNÓ, L. N.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I.; COELHO DA SILVA, J. F. C.; CECON, P. R.; GONÇALVES, L. C.; DIAS, H. L. C.; LINHARES, R. S. Concentração plasmática de ureia e excreções de ureia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1235 – 1243, 2000.
- RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO M. F.; VALADARES, R. F. D.; LEÃO, M. I.; RENNO, F. P.; PAIXÃO, M. L. Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 556 – 562, 2008.
- REYNAL, S. M.; BRODERICK, G. A.; BEARZI, C. Comparison of four markers for quantifying microbial protein flow from the rumen of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 4065 – 4082, 2005.
- RØJEN, B. A.; THEIL, P. K.; KRISTENSEN, N. B. Effects of nitrogen supply on inter-organ fluxes of urea-N and renal urea-N kinetics in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2532 – 2544, 2011.
- RUSSELL, J. B. Fermentation of peptides by *Bacteroides ruminicola* B14. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 45, p. 1566 – 1574, 1983.

- RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3551 – 3516, 1992.
- SARRASECA, A.; MILNE, E. METCALF, M. J.; LOBLEY, G. E. Urea recycling in sheep: effects of intake. **British Journal of Nutrition**, v.79, p. 79 – 88, 1998.
- SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in-vitro. **British Journal of Nutrition**, v. 32, p. 199 – 208, 1974.
- SIMMONS, N. L.; CHAUDHRY, A. S.; GRAHAM, C.; SCRIVEN, E. S.; THISTLETHWAITE, A.; SMITH, A. P.; STEWART, G. S. Dietary Regulation of Ruminal Bovine UT-B Urea Transporter Expression and Localization. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3288 – 3299, 2009.
- STARKE, S.; MUSCHER, A. S.; HIRSCHHAUSEN, N.; PFEFFER, E.; BREVES, G.; HUBER, K. Expression of urea transporters is affected by dietary nitrogen restriction in goat kidney. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3889 – 3897, 2012.
- VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUEZ, N. M.; VALADARES FILHO, S. C.; SAMPAIO, I. B. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentração de amônia ruminal e ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, p. 1270 – 1278, 1997a.
- VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; SAMPAIO, I. B.; RODRIGUEZ, N. M.; VALADARES FILHO, S. C. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 3. pH, amônia e eficiência microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, p. 1264 – 1269, 1997b.

- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfalfa silage 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 FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I.; CHIZZOTTI, M. L.; PAULINO, P. V. R. 2010. **BR CORTE – Nutrient Requirements of Zebu Beef Cattle**. 2° ed. Viçosa. MG: UFV. DZO. p.185.
- VAN NIEKERK, B. D. H.; BENSADOUN, A.; PALADINES, O. L.; REID, J. T. A study of some of the conditions affecting the rate of excretion and stability of creatinine in sheep urine. **Journal of Nutrition**, v. 79, p. 373 – 380, 1963.
- VÉRAS, R. M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; AZEVÊDO, J. A. G.; DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; FONSECA, M. A.; SAMPAIO, C. B. Níveis de proteína na dieta na dieta de bovinos Nelore de três condições sexuais: consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p.1199 – 1211, 2007a.
- 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, p. 1212 – 1217, 2007 (supl.)
- WALDRIP, H. M.; TODD, R. W.; COLE, N. A. Prediction of nitrogen excretion by beef cattle: A meta-analysis. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 4290 –4302, 2013.
- WEATHERBURN, M. W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v. 39, p. 971 – 974, 1967.

WICKERSHAM, T, A.; TITGMEYER, E. C.; COCHRAN, R. C.;
WICKERSHAM, E. E.; GNAD, D. P. Effect of rumen-degradable intake
protein supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in
steers consuming low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v. 86, p.
3079 – 3088, 2008.

WICKERSHAM, T, A.; TITGMEYER, E. C.; COCHRAN, R. C.;
WICKERSHAM, E. E. Effect of undergradable intake protein supplementation
on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming low-
quality forage. **British Journal of Nutrition**, v. 101, p. 225 – 232, 2009.

ZANTON, G. I.; HEINRICHS, A. J. Digestion and nitrogen utilization in dairy
heifers limit-fed a low and high forage ration at four levels of nitrogen intake.
Journal of Dairy Science, v. 92, p. 2078 – 2094, 2009.

8. ADENDO

Tabela 1.A – Consumos diários de matéria seca (MS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (CFDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (CNDT), em g/dia e em % PC, de bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	IMS (kg/dia)	IMS (%PC)	CMO (kg)	CPB (kg)	CEE (kg)	CFDNcp (kg)	CFDNcp (%PC)
25	2	365	1	9	7,08	1,94	6,71	0,62	0,12	2,41	0,66
28	1	302	1	9	4,53	1,50	3,42	0,39	0,09	1,58	0,52
31	2	317	3	9	5,81	1,83	5,49	0,49	0,11	2,09	0,66
32	2	344	2	9	5,86	1,70	5,67	0,44	0,11	2,26	0,66
38	1	276	3	9	4,98	1,80	4,74	0,45	0,10	1,60	0,58
71	1	304	2	9	6,07	2,00	5,71	0,51	0,12	1,94	0,64
72	1	309	4	9	5,49	1,78	5,21	0,47	0,09	1,91	0,62
25	2	381	4	11	6,48	1,70	5,72	0,61	0,11	2,01	0,53
28	1	317	4	11	5,23	1,65	4,60	0,43	0,09	1,97	0,62
31	2	322	2	11	6,59	2,05	5,80	0,46	0,13	2,18	0,68
32	2	337	3	11	8,75	2,60	8,35	0,87	0,19	2,91	0,86
38	1	286	2	11	5,84	2,04	4,22	0,67	0,10	1,30	0,45
42	2	307	1	11	6,23	2,03	5,95	0,69	0,13	2,08	0,68
71	1	310	3	11	5,64	1,08	3,18	0,60	0,11	2,35	0,76
72	1	302	1	11	6,01	1,99	5,68	0,66	0,11	2,14	0,71
25	2	350	2	13	7,21	2,06	6,75	0,79	0,14	2,14	0,46

Tabela 1.A (Continuação) – Consumos diários de matéria seca (MS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (CFDNcp), carboidratos não-fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (CNDT), em g/dia e em % PC, de bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	IMS (kg/dia)	IMS (%PC)	CMO (kg)	CPB (kg)	CEE (kg)	CFDNcp (kg)	CFDNcp (%PC)
28	1	286	2	13	5,66	1,98	5,31	0,69	0,12	1,87	0,65
31	2	337	1	13	5,43	1,61	4,39	0,64	0,09	2,29	2,29
32	2	370	4	13	8,66	2,34	8,22	1,12	0,16	2,89	0,78
38	1	275	1	13	5,73	2,09	5,39	0,76	0,11	1,95	0,71
42	2	370	3	13	9,23	2,49	8,78	1,09	0,20	3,17	0,64
71	1	303	4	13	5,43	1,25	3,59	0,53	0,11	2,29	2,29
72	1	309	3	13	6,97	2,26	6,59	0,91	0,15	2,16	0,70
25	2	359	3	15	8,05	2,24	7,68	1,18	0,16	2,54	0,71
28	1	305	3	15	5,63	1,85	5,08	0,77	0,11	1,87	0,61
31	2	317	4	15	7,19	2,27	6,81	1,01	0,13	2,47	0,78
32	2	325	1	15	6,38	1,96	5,70	0,92	0,12	2,36	0,18
38	1	275	4	15	6,86	2,49	6,51	1,00	0,12	2,22	0,81
42	2	316	2	15	2,61	0,83	2,46	.	0,11	.	0,26
71	1	289	1	15	6,62	2,29	6,26	0,94	0,12	2,18	0,75
72	1	302	2	15	7,24	2,40	4,87	0,72	0,10	1,69	0,56

Tabela 2. A – Coeficientes de digestibilidades totais aparentes de matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (DFDNcp), extrato etéreo (DEE) e teores de nutrientes digestíveis totais (NDT), em %, para bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	DMS	DMO	DPB	DFDNcp	DEE	DCNF	NDT (%)
25	2	365	1	9	62,95	68,11	50,91	56,84	75,01	78,01	65,33
28	1	302	1	9	79,66	76,51	74,80	73,00	82,78	90,49	70,22
31	2	317	3	9	75,13	76,89	64,81	69,50	98,80	84,26	71,24
32	2	344	2	9	63,99	66,84	54,16	53,72	77,21	78,67	64,65
38	1	276	3	9	65,27	67,35	57,27	46,97	76,01	80,92	67,07
71	1	304	2	9	68,81	75,77	60,96	59,30	85,00	87,34	70,31
72	1	309	4	9	61,67	64,18	55,70	49,84	73,55	74,79	60,45
25	2	381	4	11	73,49	75,82	57,04	65,63	81,88	88,95	70,01
28	1	317	4	11	60,81	67,29	43,65	55,39	76,46	81,89	60,44
31	2	322	2	11	64,67	72,21	66,75	57,54	79,26	85,44	61,74
32	2	337	3	11	71,05	72,60	56,26	64,16	75,60	80,65	66,87
38	1	286	2	11	66,72	66,78	71,05	50,06	74,55	80,02	57,68
42	2	307	1	11	68,12	71,23	69,55	59,65	75,26	80,48	67,58
71	1	310	3	11	76,73	79,06	80,25	64,62	73,50	91,58	88,99
72	1	302	1	11	64,58	69,34	62,97	58,86	64,22	79,63	67,49
25	2	350	2	13	71,41	73,93	64,58	63,08	83,98	84,20	63,33
28	1	286	2	13	74,10	78,44	74,98	64,46	84,42	89,58	72,46

Tabela 2. A (cont.) – Coeficientes de digestibilidades totais aparentes de matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (DFDNcp), extrato etéreo (DEE) e teores de nutrientes digestíveis totais (NDT), em %, para bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	DMS	DMO	DPB	DFDNcp	DEE	DCNF	NDT (%)
31	2	337	1	13	73,34	76,81	68,42	69,11	75,45	86,44	78,02
32	2	370	4	13	66,15	67,80	65,56	59,72	76,26	74,81	68,16
38	1	275	1	13	60,24	62,43	65,43	45,23	44,00	75,66	59,24
42	2	370	3	13	70,91	72,78	64,07	66,24	84,99	79,49	61,78
71	1	303	4	13	71,13	74,01	76,68	63,49	74,26	84,59	76,70
72	1	309	3	13	72,76	74,98	67,03	62,23	81,01	85,54	74,41
25	2	359	3	15	74,26	76,64	66,60	67,19	72,88	86,70	74,32
28	1	305	3	15	70,06	74,56	72,53	63,79	82,29	86,29	76,81
31	2	317	4	15	69,96	72,51	68,57	59,40	75,69	84,52	71,30
32	2	325	1	15	70,68	75,33	67,31	70,78	65,84	86,19	62,10
38	1	275	4	15	71,22	73,94	72,59	63,42	71,83	82,93	68,57
42	2	316	2	15	58,54	66,20	78,00	65,51	83,70	88,97	83,20
71	1	289	1	15	74,09	77,35	75,39	71,32	75,88	91,24	74,54
72	1	302	2	15	75,89	77,96	70,07	63,48	69,51	90,12	73,59

Tabela 3. A – Variáveis relacionadas a balanço de N, excreção urinária, função renal e manuseio de ureia para bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	Ning (g/d)	Nfecal (g/d)	N-tt urina	Nretido	Nret/Ning	ureia urina (g/d)	N-ureia urina (g/d)	NU:NT	ureia filtr (g/d)	ureia reabs (g/d)	excr fraci ureia	Creat (mg/kg PC)	RFG (mL/min/kgPC)
25	2	365	1	9	99,92	45,53	26,92	27,47	27,49	23,92	11,15	0,41	161,01	137,09	0,15	19,07	1,13
28	1	302	1	9	62,94	15,91	25,77	21,26	33,79	28,01	13,05	0,51	127,59	99,58	0,22	27,06	1,71
31	2	317	3	9	78,63	29,96	20,40	28,27	35,95	12,66	5,90	0,29	145,80	133,14	0,09	23,93	1,75
32	2	344	2	9	69,64	33,84	29,16	6,64	9,53	23,80	11,09	0,38	.	.	.	23,00	.
38	1	276	3	9	71,80	28,36	21,36	22,08	30,76	35,17	16,39	0,77	149,17	114,00	0,24	32,87	1,95
71	1	304	2	9	81,35	28,54	21,86	30,95	38,04	14,78	6,89	0,32	.	.	.	21,20	.
72	1	309	4	9	75,22	31,37	25,69	18,15	24,14	20,87	9,73	0,38	138,07	117,20	0,15	23,59	1,44
25	2	381	4	11	97,72	40,56	17,29	39,87	40,80	22,50	10,49	0,61	.	.	.	11,48	.
28	1	317	4	11	69,36	32,92	34,35	2,09	3,02	31,33	14,60	0,43	403,02	371,69	0,08	27,01	2,23
31	2	322	2	11	73,73	33,95	41,96	-2,17	-2,95	51,30	23,90	0,57	.	.	.	23,39	.
32	2	337	3	11	138,68	54,38	45,44	38,86	28,02	44,68	20,82	0,46	152,78	108,10	0,29	26,12	1,65
38	1	286	2	11	106,42	26,37	33,06	46,99	44,15	42,39	19,75	0,60	.	.	.	25,35	.
42	2	307	1	11	109,96	38,55	38,34	33,06	30,07	46,98	21,89	0,57	142,91	95,93	0,33	22,66	1,33
71	1	310	3	11	96,00	18,96	62,57	14,47	15,08	84,18	39,23	0,63	205,75	121,57	0,41	29,99	2,48
72	1	302	1	11	105,97	39,27	34,12	32,58	30,74	40,49	18,87	0,55	210,63	170,14	0,19	27,40	1,63
25	2	350	2	13	126,23	49,59	39,23	37,41	29,64	53,95	25,14	0,64	.	.	.	15,99	.
28	1	286	2	13	109,96	27,01	39,90	43,05	39,15	53,61	24,98	0,63	.	.	.	28,80	.

Tabela 3. A (cont.) – Variáveis relacionadas a balanço de N, excreção urinária, função renal e manuseio de ureia para bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	Ning (g/d)	Nfecal (g/d)	N-tt urina	Nretido	Nret/Ning	ureia urina (g/d)	N-ureia urina (g/d)	NU:NT	ureia filtr (g/d)	ureia reabs (g/d)	excr fraci ureia	Creat (mg/kg PC)	RFG (mL/min/kgPC)
31	2	337	1	13	102,80	32,02	45,25	25,52	24,83	65,75	30,64	0,68	203,02	137,27	0,32	21,03	1,25
32	2	370	4	13	179,19	61,55	84,95	32,68	18,24	82,26	38,33	0,45	425,54	343,28	0,19	27,08	1,90
38	1	275	1	13	122,14	.	38,71	.	.	64,92	30,25	0,78	364,60	299,68	0,18	28,83	2,57
42	2	370	3	13	174,00	57,84	86,38	29,78	17,11	86,66	40,39	0,47	307,04	220,37	0,28	29,27	1,94
71	1	303	4	13	85,49	19,42	50,52	15,55	18,19	70,56	32,88	0,65	367,93	297,37	0,19	29,75	2,72
72	1	309	3	13	145,10	47,64	58,45	39,01	26,88	86,17	40,15	0,69	220,34	134,18	0,39	18,03	1,18
25	2	359	3	15	188,56	61,96	82,47	44,13	23,40	127,96	59,63	0,72	429,71	301,75	0,30	28,53	1,85
28	1	305	3	15	123,24	39,04	52,06	32,14	26,08	74,69	34,80	0,67	324,34	249,65	0,23	28,35	1,93
31	2	317	4	15	161,43	49,68	56,85	54,90	34,01	86,25	40,19	0,71	373,18	286,93	0,23	25,37	1,84
32	2	325	1	15	147,26	47,25	74,02	25,99	17,65	191,41	89,20	1,21	271,02	.	0,71	27,80	1,86
38	1	275	4	15	159,96	45,52	65,80	48,63	30,40	99,79	46,50	0,71	461,62	361,83	0,22	29,54	2,44
42	2	316	2	15	25,15	.
71	1	289	1	15	150,60	31,42	63,41	55,77	37,03	96,41	44,93	0,71	425,69	329,28	0,23	26,51	2,27
72	1	302	2	15	115,30	31,50	66,48	17,32	15,02	94,97	44,26	0,67	.	.	.	23,75	.

Tabela 4. A – Valores de N-ureico plasmático (BUN; MG/dL); N microbiano (Nmic; g/d) e eficiências microbianas: Nmic/Ning; PBmic em função do consumo de NDT (PBmic/NDT) e de matéria orgânica digerida (PBmic/MOD). N-total (TTN; g/d) e teor de ¹⁵N (%) em BAL e BAP e ¹⁵N (mg/dia) nas bactérias ruminais de bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	BUN (mg/dL)	Nmic (g/d)	Nmic/Ning	Pbmic/NDT	Pbmic/MOD	BAL ttN	BAL ¹⁵ N%	BAP ttN	BAP ¹⁵ N%	¹⁵ Nbac (mg/dia)
25	2	365	1	9	12,65	65,53	0,66	88,70	89,66	7,22	0,05	7,07	0,10	49,40
28	1	302	1	9	8,03	60,92	0,97	119,75	145,50	6,74	0,04	.	.	25,17
31	2	317	3	9	8,53	49,67	0,63	74,96	73,50	6,30	0,14	6,75	0,11	63,41
32	2	344	2	9	8,53	54,26	0,78	89,23	89,42	6,93	0,14	6,87	0,14	75,73
38	1	276	3	9	8,99	68,99	0,96	128,82	134,94	7,47	0,14	6,40	0,08	75,86
71	1	304	2	9	8,63	79,59	0,98	116,67	114,97	7,92	0,16	7,14	0,16	124,36
72	1	309	4	9	10,09	66,44	0,88	125,23	124,25	7,48	0,09	7,35	0,15	78,92
25	2	381	4	11	15,93	84,69	0,87	114,07	122,00	7,25	0,07	7,66	0,08	61,61
28	1	317	4	11	18,48	87,00	1,25	171,87	175,64	7,93	0,09	6,91	0,08	72,70
31	2	322	2	11	10,06	82,47	1,12	134,95	123,03	8,22	0,09	7,76	0,08	70,38
32	2	337	3	11	8,92	6,95	0,06	7,38	0,06	.
38	1	286	2	11	19,96	71,47	0,67	131,84	158,54	8,07	0,07	7,64	0,07	48,70
42	2	307	1	11	11,33	98,76	0,90	148,16	145,58	7,01	0,14	7,72	0,08	109,64
71	1	310	3	11	8,69	93,34	0,97	185,25	231,85	7,26	0,04	6,73	0,03	33,31
72	1	302	1	11	13,92	68,23	0,64	105,02	108,35	7,08	0,07	7,93	0,07	47,95
25	2	350	2	13	16,10	68,05	0,54	95,14	85,27	6,66	0,04	7,53	0,04	29,16

Tabela 4. A (cont.) – Valores de N-ureico plasmático (BUN; mg/dL); N microbiano (Nmic; g/d) e eficiências microbianas: Nmic/Ning; PBmic em função do consumo de NDT (PBmic/NDT) e de matéria orgânica digerida (PBmic/MOD). N-total (TTN; g/d) e teor de ¹⁵N (%) em BAL e BAP e ¹⁵N (mg/dia) nas bactérias ruminais de bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	BUN (mg/dL)	Nmic (g/d)	Nmic/Ning	Pbmic/NDT	Pbmic/MOD	BAL ttN	BAL ¹⁵ N%	BAP ttN	BAP ¹⁵ N%	¹⁵ Nbac (mg/dia)
28	1	286	2	13	11,23	67,04	0,61	101,74	100,64	7,17	0,06	7,57	0,01	20,57
31	2	337	1	13	15,66	7,10	0,04	7,51	0,03	.
32	2	370	4	13	19,65	104,30	0,58	110,36	116,92	8,63	0,05	7,68	0,04	44,00
38	1	275	1	13	16,76	101,91	0,83	151,62	189,37	7,14	0,05	6,63	0,05	53,29
42	2	370	3	13	13,91	115,25	0,66	127,01	112,76	6,32	0,06	6,79	0,07	71,56
71	1	303	4	13	14,50	7,05	0,03	7,10	0,05	.
72	1	309	3	13	19,59	94,08	0,65	113,15	119,00	6,83	0,04	7,10	0,03	34,31
25	2	359	3	15	20,97	106,70	0,57	111,61	113,31	8,09	0,03	7,65	0,08	60,33
28	1	305	3	15	17,88	87,37	0,71	125,92	144,15	8,24	0,04	7,72	0,04	34,15
31	2	317	4	15	20,82	95,36	0,59	116,63	120,62	8,02	0,04	7,18	0,03	32,96
32	2	325	1	15	14,58	99,70	0,68	153,58	145,19	7,41	0,06	7,90	0,03	46,08
38	1	275	4	15	22,30	93,24	0,58	124,27	121,11	8,50	0,03	7,06	0,03	28,07
42	2	316	2	15	15,34	6,88	0,07	7,31	0,04	.
71	1	289	1	15	21,03	86,36	0,57	109,86	111,40	6,68	0,02	7,41	0,04	24,62
72	1	302	2	15	24,38	113,19	0,98	132,75	186,47	7,90	0,04	7,45	0,04	44,56

Tabela 5. A – Concentração de amônia ruminal (NH₃; mg/dL), teor de ¹⁵N-NH₃ ruminal (%) e quantidade de 15N nas fezes (mg/d) em bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	[NH ₃] ruminal (mg/dL)	¹⁵ N-NH ₃ ruminal (%)	¹⁵ Nfecal (g/d)
25	2	365	1	9	25,62	0,053	0,001
28	1	302	1	9	14,68	0,070	0,001
31	2	317	3	9	29,97	0,100	0,002
32	2	344	2	9	21,97	0,149	0,002
38	1	276	3	9	30,63	0,093	0,002
71	1	304	2	9	32,08	0,141	0,002
72	1	309	4	9	35,47	0,071	0,001
25	2	381	4	11	85,22	0,034	0,002
28	1	317	4	11	38,52	0,040	0,002
31	2	322	2	11	23,25	0,088	0,002
32	2	337	3	11	76,08	0,054	0,004
38	1	286	2	11	64,52	0,044	0,002
42	2	307	1	11	57,63	0,038	0,002
71	1	310	3	11	77,11	0,045	0,001
72	1	302	1	11	66,81	0,094	0,003
25	2	350	2	13	101,19	0,025	0,002
28	1	286	2	13	95,60	0,041	0,001

Tabela 5. A – Concentração de amônia ruminal (NH₃; mg/dL), teor de ¹⁵N-NH₃ ruminal (%) e quantidade de 15N nas fezes (mg/d) em bovinos Nelore alimentados com níveis dietéticos de PB

Animal	QL	PC (kg)	Per.	Trat	[NH ₃] ruminal (mg/dL)	¹⁵ N-NH ₃ ruminal (%)	¹⁵ Nfecal (g/d)
31	2	337	1	13	104,64	0,011	0,001
32	2	370	4	13	92,71	0,027	0,003
38	1	275	1	13	31,40	0,046	.
42	2	370	3	13	181,92	0,010	0,002
71	1	303	4	13	141,24	0,044	0,001
72	1	309	3	13	141,30	0,067	0,002
25	2	359	3	15	167,61	0,014	0,001
28	1	305	3	15	176,78	0,036	0,002
31	2	317	4	15	127,95	0,021	0,002
32	2	325	1	15	130,86	0,012	0,000
38	1	275	4	15	121,60	0,028	0,002
42	2	316	2	15	123,21	0,028	.
71	1	289	1	15	119,43	0,039	0,001
72	1	302	2	15	101,50	0,029	0,001