



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DERIVADOS DE PURINA E SINTESE DE PROTEINA MICROBIANA EM
NOVILHOS MANTIDOS A PASTO E SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES
FONTES DE NITROGÊNIO NÃO PROTEICO, EM ASSOCIAÇÃO A ENZIMAS
FIBROLÍTICAS**

RODRIGO AUGUSTO GRESSLER

DOURADOS-
MS2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA.

**DERIVADOS DE PURINA E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA EM
NOVILHOS MANTIDOS A PASTO E SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES
FONTES DE NITROGÊNIO NÃO PROTEICO, EM ASSOCIAÇÃO A ENZIMAS
FIBROLÍTICAS**

RODRIGO AUGUSTO GRESSLER

Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e
Buschinelli de Goes

Trabalho apresentado à banca examinadora,
como parte dos requisitos para obtenção da
graduação em Bacharel em Zootecnia pela
Universidade Federal da Grande Dourados.

DOURADOS-MS

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

G832d Gressler, Rodrigo Augusto

Derivados de purina e síntese de proteína microbiana em novilhos mantidos a pasto e suplementados com diferentes fontes de nitrogênio não proteico, em associação a enzimas fibrolíticas / Rodrigo Augusto Gressler -- Dourados: UFGD, 2017.

31f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes

TCC (Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias,
Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Purinas. 2. Suplemento proteico. 3. Pastagens tropicais. 4. Período das águas. I.
Título

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

**DERIVADOS DE PURINA E SINTESE DE PROTEINA MICROBIANA
EM NOVILHOS MANTIDOS A PASTO E SUPLEMENTADOS COM
DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO NÃO PROTEICO, EM
ASSOCIAÇÃO A ENZIMAS FIBROLÍTICAS**

por

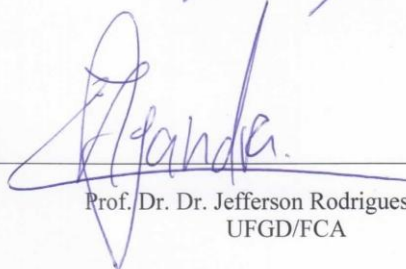
RODRIGO AUGUSTO GRESSLER

Trabalho apresentado à banca examinadora, como parte dos requisitos para obtenção
do título de Bacharel em Zootecnia.

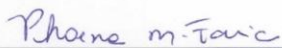
Aprovado em 29/08/17



Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
UFGD/FCA



Prof. Dr. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
UFGD/FCA



Me. Phaena Moraes Faria
UFGD/FCA

“Em um estado sombrio nós nos encontramos, um pouco mais de conhecimento iluminar nosso caminho pode”

(Yoda, star wars III a vingança dos sith)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por sempre me guiar e mostrar o caminho para que eu chegasse até aqui.

Agradeço também a toda minha família, principalmente minha mãe (Gizelma) e meu pai (Selmos) e meus avós (Orlando e Lori) por me fazer continuar e nunca desistir de estudar me dando apoio e exigindo que eu me esforça-se para chegar ao fim.

A minha namorada amiga e companheira Cindhy que com amor e carinho sempre me segurou nos momentos mais difíceis e me fez amadurecer ao longo da graduação.

Aos meus amigos que sempre foram meus companheiros, principalmente ao Charles meu amigo e colega que me ajudou e serviu como exemplo para mim durante todo o curso.

Ao meu orientador Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes por me aceitar como orientado e permitir que esse trabalho fosse realizado.

Ao meu querido irmão Matheus que sempre foi meu companheiro e melhor amigo.

Aos professores do Curso de Zootecnia que com seus ensinamentos nessa árdua caminhada fizeram com que eu chegasse até aqui.

SUMÁRIO

	Paginas
LISTA DE TABELAS.....	VII
RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Suplementação a pasto.....	2
2.2. Suplementação proteica.....	3
2.3. Suplementação na época das águas.....	4
2.4. Utilização da ureia na suplementação de ruminantes.....	5
2.5. Enzima fibrolítica.....	7
2.6. Proteína microbiana e derivados de purina.....	8
3. MATERIAIS E METODOS.....	9
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
5. CONCLUSÃO.....	15
6. REFERÊNCIAS BLIOGRÁFICAS.....	16

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Proporção dos ingredientes nos suplementos fornecidos.....	10
TABELA 2. Produção de matéria seca (tonelada de MS/ha), folha (%), colmo (%), e material senescente (%).....	12
TABELA 3. Composição bromatológica (% MS) da forragem (<i>Urochloa brizantha</i> , <i>syn.</i> <i>Brachiaria brizantha</i>), ingerida pelos animais.....	13
TABELA 4. Excreções de derivados de purina, síntese de proteína microbiana e N- microbiano de novilhos mantidos a pasto e suplementados com diferentes fontes de nitrogênio não protéico, em associação a enzimas fibrolíticas.....	13

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a síntese de proteína microbiana em novilhos mantidos a pasto suplementados com diferentes fontes de NNP, associada com enzima fibrolítica. O experimento foi conduzido no setor de nutrição de ruminantes do curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados. Foram utilizados três (3) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de 350kg mantidos em piquetes individuais de *Urochloa brizantha* cv. Marandu dispostos em quadrado latino 3x3, não contemporâneo. Os tratamentos foram suplementação proteica alterando-se as fontes de NNP: UC (concentrado + ureia convencional) e UP (concentrado + ureia protegida). Foi utilizada a suplementação mineral (SM) como tratamento controle. Os animais foram suplementados diariamente com 0,3% do peso vivo de um suplemento protéico com 38%PB. O tratamento controle SM foi fixado a 100g por animal/dia. Os dados avaliados foram de contrastes ortogonais sendo contraste 1 (SM x suplementação proteica) e contraste 2 (UC x UP). A suplementação proteica melhorou a síntese de proteína microbiana dos animais ($P=0,018$), porém a fonte de NNP não alterou o N microbiano (g/dia). O mesmo comportamento foi apresentado para os derivados de purina. A suplementação proteica dos animais a pasto melhora a síntese de proteína microbiana dos animais, porém não ocorreu efeito da fonte de NNP para tal variável.

Palavras chaves: purinas, suplemento protéico, pastagens tropicais, período das águas

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the microbial protein synthesis in steers kept the grass supplemented with different sources of NPN, associated with fibrolytic enzymes. The experiment was conducted in the Animal Science sector of the Federal University of Grande Dourados. Were used three (3) crossbred steers with ruminal cannulas with average weight of 350 kg, kept on individual paddocks of *Urochloa brizantha* cv. Marandu arranged in 3 x 3 square design, not contemporary. The treatments were protein supplementation by changing the NPN sources: UC (concentrate + conventional urea) and UP (concentrated + slow-release urea). Mineral supplementation was used (SM) as control treatment. The animals were supplemented daily at the rate of 0.3% body weight (BW) of a protein supplementation with 38% PB. The SM control treatment was set at 100 g per animal/day. The data were evaluated of orthogonal contrasts being 1 contrast (SM x protein supplementation) and contrast 2 (UC x UP). Protein supplementation improved microbial protein synthesis of animals ($P = 0.018$), however the NPN source did not change the microbial N (g/day). The same behavior was presented to the purine derivatives. Protein supplementation to grazing animals improves the microbial protein synthesis of animals, but had no effect occurred for the NPN source in this variable.

Key words: purines, protein supplementation, tropical pastures, rainy season

1. INTRODUÇÃO

A pastagem é a fração mais econômica da alimentação dos herbívoros, pois, além de ser produzida na própria fazenda, não precisa ser colhida, sendo consumida diretamente pelos animais (PUPO, 1979). Por isso, a grande maioria das propriedades de criação de bovinos de corte no Brasil utiliza as pastagens como fonte principal de alimentação dos animais.

O Brasil, assim como os países localizados nas regiões tropicais e subtropicais do mundo enfrentaram e enfrentam sérios problemas causados pelos períodos de escassez de alimentos para bovinos, tanto de corte como de leite. Esta escassez de alimentos ocorre principalmente no período do inverno, pela baixa capacidade vegetativa das pastagens. Esta diversidade tem causado inúmeros prejuízos aos rebanhos bovinos, com a redução da produção de leite, elevada idade ao abate, baixa fertilidade, alta sensibilidade às doenças oportunistas, entre outros fatores (PRADO & MOREIRA, 2002). De acordo com Zervoudakis et al (2011), as variações quantitativas e qualitativas do pasto impõe épocas de ganho e épocas de perda de peso ou estabilização do crescimento animal.

Diante do exposto, as gramíneas tropicais raramente podem ser consideradas como dieta equilibrada para animais em pastejo, pois estas irão exibir invariavelmente uma ou mais limitações nutricionais que causarão restrições sobre o consumo de pasto, a digestão da forragem ou a metabolizabilidade dos substratos absorvidos (DETMANN et al, 2010). Desta forma é importante explorar práticas relativas à suplementação dos animais a pasto para provimento de recursos visando a redução de entraves nutricionais e o alcance de metas de produção animal.

Além da tradicional suplementação durante a seca é importante lembrar que uma suplementação de animais mantidos a pasto na época das águas, ou seja, de grande disponibilidade de forragem pode gerar um ganho de peso adicional permitindo uma redução do tempo de terminação resultando num encurtamento do ciclo produtivo e assim gerando maior renda ao produtor.

Em dietas de bovinos a pasto a suplementação com uma fonte de nitrogênio não protéico visa disponibilizar maior aporte de nitrogênio para a síntese de proteína microbiana o que resulta num maior ganho de peso dos animais e em um melhor balanço proteína: energia na dieta.

Assim, o presente trabalho tem o objetivo de avaliar a síntese de proteína microbiana de novilhos mantidos a pasto e suplementados com diferentes fontes de NNP associadas ao uso de enzimas fibrolíticas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Suplementação a pasto

A utilização de suplementação tem por objetivo atender as exigências nutricionais dos animais, complementando o valor nutritivo da forragem, a fim de se alcançar o desempenho desejado, podendo alcançar melhores índices de produção (EUCLIDES & MEDEIROS, 2005). A suplementação corrige déficits que as pastagens possam apresentar em determinados períodos do ano e em determinadas atividades (PAULINO et al, 2002).

Segundo Lana (2002) as principais vantagens de suplementar, são: suprir os nutrientes para os animais, utilizar as pastagens de modo mais adequado, evitar a subnutrição, melhorar a eficiência alimentar, auxiliar na desmama precoce, reduzir a idade do primeiro parto, reduzir o intervalo entre partos, diminuir a idade de abate, aumentar a taxa de lotação das pastagens e auxiliar na terminação de animais de descarte.

Quando se faz a suplementação em pastagens, o primeiro conceito que se deve ser sempre enfatizado tem relação com o nutriente limitante de produção. Ou seja, antes da formulação de um suplemento, é importante o conhecimento do primeiro nutriente que está limitando a resposta em termos de produção animal. Este nutriente pode ser mineral, vitamina, proteína ou energia. Depois de determinado o nutriente limitante e devidamente suplementado, é que se irá avaliar o uso de outros nutrientes para que a máxima produção seja obtida. De modo geral, para ruminantes, no período seco do ano, o nutriente de maior limitação é o nitrogênio. Este elemento, quando deficiente, não permite o pleno desenvolvimento dos microrganismos do rúmen que são os responsáveis pelo uso eficiente dos alimentos. Quando o nível de nitrogênio no líquido ruminal torna-se marginal ocorre uma redução sistemática do aproveitamento dos alimentos ingeridos. Desta forma, todos os suplementos de inverno procuram maximizar o uso de fontes de nitrogênio, sendo com o uso de proteína verdadeira ou com o uso de fontes de nitrogênio não protéico, como a ureia (PRADO & MOREIRA, 2002).

Existem basicamente duas formas de utilização de suplementos:

- Suprir nutrientes limitantes (normalmente nitrogênio não protéico – NNP) tendo como objetivo, em grande parte, atingir níveis de manutenção;
- Suprir nutrientes energéticos e/ou protéicos objetivando maior ganho de peso vivo (GPV), com ênfase em ordenamentos estratégicos de fornecimento de animais prontos em períodos de entre safra, potencializando ganhos em período de oferta de forragens de boa qualidade,

melhorar desempenhos reprodutivos nos rebanhos. Portanto a estratégia de utilização da suplementação fica condicionada aos objetivos do pecuarista atrelado ao custo benefício desta prática.

2.2.Suplementação proteica

O fator limitante de bovinos mantidos em pastagens de baixa qualidade é a amônia ruminal, necessária para a síntese de proteína microbiana (BEAUTY et al, 1994). Uma vez atendida a exigência deste nutriente, haverá um aumento na digestibilidade da forragem por aumentar a eficiência microbiana. Na realidade, quando fala-se em suplementação proteica existe uma preocupação maior em fornecer substrato para a colônia de microrganismos que habitam o complexo retículo + rúmen, sejam as bactérias, protozoários ou fungos. Esta colônia de microrganismos tem o papel essencial de transformar os alimentos (forragens, cereais ou grãos de oleaginosas e seus subprodutos) em ácidos graxos voláteis (fonte de energia) e proteína microbiana (fonte de proteína) para o animal hospedeiro (PRADO & MOREIRA, 2002).

A degradação da proteína bruta da forragem vai depender da atividade dos microrganismos do rúmen e do tempo de retenção da forragem no mesmo. A degradação da proteína bruta é baixa quando a forragem é deficiente em enxofre ou em nitrogênio (BOWMAN; ASPLUND, 1988).

A maior fonte de proteína para ruminantes mantidos em pastagem é a proteína microbiana. A síntese de proteína microbiana é de importância fundamental na nutrição de bovinos em pastagens. Para que haja sua síntese são necessários: esqueleto carbonado, nitrogênio e condições ruminais favoráveis para o crescimento microbiano. O esqueleto carbonado é originado a partir da fermentação dos carboidratos da forragem, enquanto que o nitrogênio provém da degradação da proteína da planta e da reciclagem da ureia através da saliva. Quando ocorre maior deficiência de nitrogênio, maior parte pode ser reciclado através da saliva e conseqüentemente utilizado pelos microrganismos do rúmen sem prejuízo para a síntese de proteína microbiana. Existe porem um nível mínimo de nitrogênio na dieta (6 a 8% de proteína bruta ou 1,1 a 1,3% de nitrogênio, em relação a matéria seca). Quando a dieta não alcançar esse limite mínimo, a reciclagem de uréia no rúmen não sera mais suficiente para atender a demanda de nitrogênio pelos microrganismos do rúmen. O resultado final será a redução no consumo e na digestibilidade da forragem (VAN SOEST, 1994).

O uso de suplementos proteicos, formulados a partir de proteína degradável no rúmen,

em bovinos de corte, geralmente levam ao aumento no consumo e na digestibilidade de forragens de baixa qualidade (HELD et al, 1999). Isso ocorre pelo aumento na síntese de proteína microbiana em decorrência da liberação de amônia no rúmen que faz com que diminua a porção indigestível presente no mesmo, reduzindo assim o tempo de retenção que favorecerá o consumo da forragem pelo animal. (PRADO & MOREIRA, 2002).

Em relação aos parâmetros ruminais, a suplementação proteica leva ao aumento na concentração de amônia ruminal, aumento na produção de ácidos graxos voláteis e diminuição do PH ruminal (HESS et al, 1994).

2.3. Suplementação na época das águas

A rentabilidade da suplementação quando realizada na época das águas, pode aumentar devido a terminação dos animais em confinamento, após o período de suplementação em pasto, coincidir com a venda na entressafra, período de menor oferta de animais terminados (NETO, et al., 2012).

Apesar do acréscimo do custo de produção com o uso da técnica de suplementação nas águas, este manejo também apresenta redução considerável no período de terminação do animal, quer seja em pasto ou em confinamento, com desejáveis retornos econômicos (THIAGO& SILVA, 2001).

Santos et al. (2007) concluíram que pode ocorrer aumento de até 50% no lucro operacional por área, com a utilização da suplementação na época das águas.

Estudos sobre suplementação na época das águas, com forragem disponível contendo mais de 11% de PB, apontaram que a suplementação na dose de 6g.kg⁻¹, tanto proteica como energética, melhora o ganho de peso, taxa de lotação e produção de carne por área (SANTOS et al., 2007).

Os níveis desejados de produção em bovinos de corte muitas vezes não são alcançados em sistemas de produção exclusivos em pastagens. O aumento nos níveis de produção podem ser obtidos através da suplementação energética de animais consumindo forrageiras de quantidade relativamente alta de proteína (HESS, et al., 1996). Porém vale lembrar que as forragens com alto teor de proteína são em sua maioria pastagens de clima temperado, diferentemente das pastagens de clima subtropical e tropical que são as mais utilizadas no Brasil, onde estas tem deficiência em nitrogênio, na maior parte do tempo.

Acredita-se muitas vezes que forragens contendo altas concentrações de proteína bruta são capazes de fornecer toda proteína necessária para animais de alta produção. Porém, parte

desta proteína nunca chega até o intestino delgado destes animais, em decorrência das perdas como proteína degradável no rúmen (PRADO & MOREIRA, 2002). Segundo Detmann et al. (2010; 2014), a avaliação dos pastos tropicais durante o período chuvoso indica que há um desequilíbrio na relação proteína:energia (P:E), com excesso relativo de energia, isso indica diretamente que os programas de suplementação a serem utilizados neste período devem focar prioritariamente o estabelecimento de um equilíbrio dietético que envolva a elevação da concentração dietética de proteína para que o excedente relativo de substratos energéticos da forragem possa ser transformado em produto animal. Desta forma, a suplementação na época das águas deve ser centrada em características essencialmente proteicas (DETMANN et al., 2010).

2.4 Utilização da ureia na suplementação de ruminantes

Os alimentos volumosos, conservados ou verdes, fornecidos no cocho para bovinos, apresentam normalmente baixos teores de proteína bruta (PB), sendo necessária a correção desse nutriente à medida que se busca melhorar o desempenho dos animais. Uma maneira de compensar o déficit protéico nas dietas de ruminantes é a utilização de nitrogênio não protéico.

Os microrganismos do rúmen têm a capacidade de transformar o nitrogênio da dieta em proteína de boa qualidade. O nitrogênio tanto pode vir de proteínas verdadeiras (Ex.: farelo de soja, farelo de algodão, forragens, outros) quanto de alguns compostos inorgânicos (compostos nitrogenados não-protéicos), como uréia, biureto e ácido úrico.

A uréia é tradicionalmente uma das principais fontes de nitrogênio não protéico fornecida como suplementação ao pastejo. É uma substância nitrogenada não-protéica que quando ingerida, é hidrolisada em amônia, que é tóxica para todos os animais vertebrados. No entanto, os ruminantes conseguem utilizar essa amônia, graças à simbiose com microrganismos naturalmente presentes no seu rúmen-retículo, os quais empregam a amônia como substrato para a síntese de suas próprias proteínas. No momento em que estes microrganismos passam com o bolo alimentar para o abomaso e duodeno, eles são digeridos pelos animais, que dessa maneira se beneficiam de proteína microbiana, de alta qualidade. (GONÇALVES et al. 2004)

A ocorrência desta transformação depende da quantidade e do nível de degradação da energia fornecida ao animal e da capacidade de crescimento da população de microrganismos, sendo que o limite do crescimento microbiano é dependente da ingestão de energia (RIBEIRO

& MOOSER,2008).

Há muitas formas de fornecimento da ureia na suplementação de ruminantes e as principais são por intermédio da combinação da ureia com concentrados, com volumosos de baixo valor proteico, como aditivo para silagens, com melação, como cana-de-açúcar entre outras.No entanto, a ureia tem grande solubilidade no rumem o que se torna um problema pela rápida liberação de amônia e, conseqüente, acúmulo de $N-NH_3$ no rúmen, que é absorvido e levado para metabolização e conversão em ureia, forma pela qual é excretada pela urina ou reciclada pela parede ruminal e saliva. Entretanto, este processo gasta energia, diminuindo a disponibilidade de energia para o animal. Quando absorvida em grande quantidade, a amônia pode exceder a capacidade hepática de detoxificação, acumular-se no sangue e causar intoxicação, podendo levar à morte do animal.

A quantidade de ureia que pode ser utilizada é limitada, devido à sua rápida hidrólise. Se esta hidrólise ocorrer numa velocidade maior que a disponibilidade de energia para capacitar a conversão do nitrogênio amoniacal em microbiota ruminal, haverá acúmulo e escape de amônia no rúmen. Por esse motivo, a ureia será melhor utilizada como fonte de nitrogênio para síntese proteica, quando houver sincronismo entre liberação de energia e nitrogênio (AKAY et al., 2004).

Mais recentemente a indústria alimentícia iniciou a comercialização da uréia protegida, que devido a uma película de cera que recobre os grãos do produto promove liberação mais lenta no rúmen o que asseguraria uma absorção mais efetiva e sem intoxicações (TEDESCHI et al., 2002), melhorando o desempenho animal em suplementos proteicos quando substituindo parcialmente a uréia convencional (MARCHESIN et al., 2006).

De acordo com Ferreira et al. (2005) as fórmulas de nitrogênio não protéico de liberação lenta, proporcionam uma maior eficiência ao metabolismo animal, com economicidade e aumento da produtividade. A liberação lenta de nitrogênio pode chegar até 24 a 36 horas após ingestão, proporcionando um melhor sincronismo com a liberação de energia da dieta, tornando mais eficiente a conversão do nitrogênio em proteína microbiana (AKAY et al.,2004). Assim, devido a menores dispêndios energéticos para reciclagem de amônia, pode se dizer que os animais utilizam essa sobra energética para maiores taxas de crescimento(ZIGUER et al., 2012).

Os ensaios de liberação de amônia in situ indicam resultados favoráveis ao uso do produto, pois comprovam uma liberação mais gradual (FERREIRA et al., 2005), assim como trabalhos de avaliação metabólica. Porem, em experimentos de consumo, digestibilidade desempenho não têm sido verificadas vantagens no uso de ureia de liberação lenta se

comparado à ureia comum (GALO et al., 2003).

Leite et al, (2010) demonstraram que a utilização de Uréia Protegida em suplementos proteicos é uma possibilidade viável para obter melhores ganhos de peso para bovinos de corte a pasto. Foi conduzido estudo em pastagens com cerca de 4.000 kg de massa de forragem com baixo valor proteico (*B. decumbens*), durante o período de inverno foi observado que o fornecimento da Uréia Protegida foi equivalente (0,681 kg cabeça /d) ao fornecimento do Farelo de Soja (0,699 kg cabeça /d) no que diz respeito ao ganho de peso médio diário (GMD) de bovinos da raça Nelore.

Os mesmos autores também conduziram experimento durante o verão, relatando o ganho de peso médio para o tratamento Farelo de Soja foi de 0,706 kg cabeça/dia, enquanto que para a Uréia Protegida foi de 0,783 kg cabeça/ dia.

2.5. Enzimas fibrolíticas

As forragens são uma importante fonte de energia para ruminantes por conter a celulose como um dos principais componentes. Muitas espécies forrageiras são de baixa qualidade por causa da pobre digestibilidade e energia limitada disponível para o animal, o que contribui para uma grande excreção de nutrientes e uso incompleto de frações da parede celular no rúmen devido às ligações complexas que limitam a degradação de compostos nutricionais.

Ruminantes são animais capazes de aproveitar com eficiência alimentos com alta quantidade de fibra de baixa qualidade, devido à população microbiana presente no rúmen agindo através da síntese e secreção de enzimas endógenas capazes de realizar a hidrólise dos constituintes da fibra da parede celular da fibra (MIRANDA, 2017). No entanto, ainda que os microrganismos do rúmen consigam digerir celulose e outros carboidratos fibrosos, fatores relacionados à estrutura e composição da planta, como as interações físico-químicas entre a matriz de hemicelulose e lignina, e os aspectos relacionados ao animal, como mastigação, salivação e pH ruminal, podem limitar a digestão do alimento no rúmen (MARTINS et al., 2006), o que leva à necessidade de encontrar maneiras de otimizar o uso de forragens. Uma opção é o uso de enzimas exógenas para ajudar com a digestão.

Enzimas são proteínas com função específica. Elas apresentam atividade catalítica e também são seletivas e especializadas, ou seja, uma enzima é capaz de acelerar uma determinada reação bioquímica em milhares de vezes, mas não apresenta nenhuma atividade

em outro meio reacional. As enzimas, por serem tipos especiais de catalisadores, fornecem caminhos alternativos e menos energéticos para reações bioquímicas. De acordo com Stivari et al. (2014) a utilização de enzimas fibrolíticas na dieta de ruminantes tem apresentado resultados promissores, proporcionando melhorias na degradabilidade da fibra, índices zootécnicos e parâmetros ruminais.

As enzimas fibrolíticas são incorporadas em forma líquida ou granular misturado a ração, feno, silagens, concentrados, suplementos ou pré-mistura e aumentam a disponibilidade de nutrientes na parede celular (IBANHEZ, 2010.) As enzimas podem ser adicionadas em quantidades que variam de 0,01 a 1,0% da dieta e podem contribuir com até 15,0% da atividade fibrolítica total do rúmen (Beauchemin, 1996).

Na literatura, há relatos de avaliações de produtos enzimáticos comerciais e experimentais para os animais. Xilanases e celulases têm sido mais comumente utilizados para ruminantes. Beauchemin et al., (1995) suplementando bovinos com níveis crescentes de xilanase e celulase em forragem de alfafa observaram um incremento no ganho de peso acima de 30%.

As xilanases desempenham a função de degradação de carboidratos hemicelulósicos do alimento, fornecendo açúcares para as bactérias presentes no rúmen. Há uma rápida proliferação das bactérias ruminais, quando há presença desses xilooligossacarídeos, acarretando na melhoria da eficiência do processo de digestão (LOURES, 2004).

2.6. Proteína microbiana e derivados de purina.

A proteína microbiana é essencial para satisfazer as demandas de proteínas dos ruminantes, refletindo assim numa necessidade de maximizar a eficiência de síntese a fim de diminuir a necessidade de suplementação e elevação do custo de produção.

A maior parte dos aminoácidos que são absorvidos no intestino delgado dos ruminantes provém da proteína microbiana, assim, torna-se necessário um suprimento ótimo desses aminoácidos para garantir a normalidade no metabolismo proteico desses animais (PESSOA et al., 2009). De acordo com o NRC (2001), as proteínas sintetizadas pelos microrganismos ruminais possuem excelente perfil aminoacídico e composição pouco variável. Dessa forma, o estudo dos mecanismos de síntese proteica microbiana e dos fatores relacionados é de grande importância (AGUIAR et al, 2015).

De acordo com Susmel et al. (1994) há considerável interesse em se utilizarem

concentrações de derivados de purina e outros catabólitos nitrogenados no leite e na urina como indicadores do fluxo intestinal de proteína microbiana e da utilização dos compostos nitrogenados dietéticos. Estudos tem evidenciado a relação entre produção de proteína microbiana e excreção de derivados de purina na urina (VAGNONI et al., 1997; RENNÓ et al., 2000).

Dessa forma, a excreção de derivados de purina na urina seria um método simples e não-invasivo para estimativa da produção de proteína microbiana no rúmen. A técnica de determinação da excreção urinária de DP admite que os ácidos nucleicos que chegam ao duodeno são, predominantemente, de origem microbiana e, após digestão intestinal e absorção, tais derivados são, proporcionalmente, recuperados na urina, principalmente na forma de alantoína, mas também como hipoxantina, xantina e ácido úrico (PEREZ et al., 1996). De acordo com Chen & Gomes (1992), a alantoína e o ácido úrico são os principais derivados de purina presentes na urina de bovinos.

De acordo com Leal et al. (2007) em seus experimentos, a excreção de alantoína representa 92,2%, do total de derivados de purinas excretados. Estes valores sugerem que a excreção de alantoína constitui um bom parâmetro para representar a excreção de derivados de purina, visando à estimativa da produção de proteína microbiana.

3. MATERIAIS E METODOS

O experimento foi conduzido, nas dependências do setor de Nutrição de Ruminantes, Laboratório de Digestibilidade in vivo e Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados entre os meses de novembro de 2015 á fevereiro de 2016, em um total de 72 dias úteis de experimento.

Foram utilizados três (3) novilhos mestiços canulados no rúmen com peso médio de (350 kg) mantidos em piquetes individuais *Urochloa brizantha* cv. Marandu, dispostos em quadrado latino 3x3 não contemporâneo. A área experimental consistia de 1ha; dividida em 3 piquetes de 0,3 ha, delimitados por cerca elétrica, dotados de cochos e bebedouros aos animais. O período experimental foi de 12 dias, sendo que os animais foram rotacionados ao fim de cada período, evitando a interferência da pastagem.

Os tratamentos consistiam na alteração da fonte de NNP dos suplementos, sendo: UC (concentrado + ureia convencional) e UP (concentrado + 81,5% ureia, Revestic®230); como tratamento controle foi utilizado somente a suplementação mineral (SM). O suplemento foi fornecido na proporção inicial de 0,3% do peso vivo, com ajuste posterior de acordo com as

sobras, sempre no horário da manhã até as 10h00min para evitar interferência no consumo de forragem. O sal mineral foi fixado na quantidade diária de 100g por animal. As rações foram balanceadas para serem isoproteicas, com aproximadamente 38% de PB (Tabela 1).

A enzima fibrolítica (Fibrozyme™, Alltech) foi fornecida diariamente aos animais na quantidade de 20 g diretamente no rúmen por meio de cartuchos de papel degradável. O fornecimento foi realizado no mesmo horário de fornecimento do suplemento aos animais, durante todos os dias do período experimental.

Tabela 1. Proporção (%) dos ingredientes nos suplementos fornecidas.

Ingredientes	SM	UC*	UP*
Milho		63%	61%
Farelo de Soja		18%	18%
Ureia Convencional		9%	-
Ureia Protegida		-	11%
Núcleo Mineral	100%	10%	10%

*UC=concentrado + ureia convencional, *UP= concentrado + ureia protegida.

No primeiro dia de cada período experimental, foi determinada a disponibilidade total de matéria seca do pasto, através do corte rente ao solo de 10 áreas delimitadas por quadrados metálicos (0,25 m²) de forma aleatória, conforme descrito por McMeniman (1997). Posteriormente, as amostras foram uniformizadas por piquete onde se retiraram duas amostras, uma para a determinação da composição bromatológica e outra para a quantificação da composição botânica. Todas as amostras foram armazenadas em sacos plásticos previamente identificados e congeladas para posteriores análises laboratoriais.

Das amostras que foram destinadas à estimativa da disponibilidade total de matéria seca de forragem, foram confeccionadas amostras compostas para cada piquete, as quais foram secas sob ventilação forçada (60°C) e processadas em moinho de facas (1 mm). Posteriormente procedeu-se à quantificação do teor de MS (AOAC, 2000) (tabela 2).

No 11° dia de cada período experimental foi realizada a coleta de urina, na forma “spot”, quatro horas após o fornecimento do suplemento, em micção espontânea dos animais, sendo armazenadas duas alíquotas A primeira de 10 mL foi diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N), para à determinação da concentração de creatinina, uréia, ácido úrico e alantoína, segundo padronização de Valadares et al. (1999). A segunda alíquota de 20ml foi conservada em 1 mL de ácido sulfúrico (36N) e utilizada para à determinação da

concentração de N total urinário. As amostras foram imediatamente congeladas a -20°C para análise posterior

As análises de alantoína foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). Para a determinação da concentração de ácido úrico foram utilizados kits comerciais (Labtest® / Gold analisa®).

A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação: $DP = 0,85 * Pabs + 0,385 * PC^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 PC^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC et al., 1990).

O volume total urinário foi determinado por intermédio da relação entre concentração de creatinina na urina e sua excreção por unidade de peso corporal, adotando-se como padrão o valor de $27,36 \text{ mg/kg} - \text{PC}$: $VU \text{ (l/dia)} = (27,36 \times \text{PC}) / [\text{creatinina}]$, obtido por Rennó et al. (2003) em novilhos cruzados e zebuínos, PC é o peso corporal do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg/L, encontrada na amostra de urina spot dos animais.

No 12º dia de cada período experimental ocorreu a coleta da forrageira ingerida pelos animais (extrusa), através do esvaziamento ruminal. Anteriormente a coleta os animais foram submetidos a jejum por 12 horas. Os animais tiveram o rúmen esvaziado manualmente, seco com panos de algodão e limpo, todo material foi acondicionado em tambores de plástico. Após o esvaziamento ruminal os animais foram recolocados em seus respectivos piquetes e pastejaram por 30-40 minutos; após o pastejo foi retirado o material ingerido presente no rúmen. Coletou-se em média de 400 g de amostra, que foi armazenada em sacos plásticos, identificada, e transportada dentro de uma caixa de isopor (para evitar fermentações indesejáveis e perda de umidade da amostra) até o Laboratório de Nutrição Animal/FCA/UFGD.

Estas amostras foram secas sob ventilação forçada (60°C) e processadas em moinho de facas (1 e 2 mm). As amostras foram posteriormente compostas, com base no peso seco ao ar, por piquete e período experimental.

As amostras de forragem obtidas por esvaziamento ruminal foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), cinzas (CZ) e material orgânica (MO) de acordo com a metodologia de Silva e Queiroz (2002). (tabela 3).

Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC

2009), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE.

Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + C_k + D_l + e_{ijkl}$$

Onde: Y_{ijkl} = variável dependente,

μ = media geral,

A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 3),

P_j = efeito do período ($j = 1$ a 6),

C_k = efeito do quadrado ($k = 1$ to 2),

D_l = efeito de dieta ($l = 1$ a 3) e

e_{ijklm} = erro.

O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por: A_i e P_j . Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM= kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%. Para análise dos dados foi realizado análise de contrastes ortogonais onde C1(Controle vs ureia) e C2 (ureia pecuária vs ureia protegida), adotando-se nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental, a disponibilidade total de Matéria Seca e de Matéria Seca Verde foi de 5,46 ton./ha e 3,62 ton./ha respectivamente (Tabela 2), o que proporcionou os animais selecionar a dieta a ser ingerida

Tabela 2. Produção de matéria seca (tonelada de MS/ha), folha (%), colmo (%), e material senescente (%).

	Tratamentos			Média
	SM	UC	UP	
Produção MS (ton./ha)	5,24	5,30	5,83	5,46
MS verde ton./ha	3,00	3,93	3,93	3,62
Folha (%)	27,31	32,19	32,38	30,63
Colmo (%)	29,93	41,90	35,07	35,63
Material senescente (%)	42,77	25,91	32,55	33,74

*MS= matéria seca, SM= suplemento mineral, UC= concentrado com ureia convencional, UP= concentrado com ureia protegida.

A pastagem apresentou teor médio de PB de 7,45% (Tabela 3), sendo superior ao valor de 7,0% observados por Minson (1990), como o mínimo necessário para que os microrganismos tenham condições de utilização dos substratos energéticos fibrosos da forragem, e que Van Soest (1994), aponta como limite para a redução do consumo.

Tabela 3. Composição bromatológica (%MS) da forragem (*Urochloa brizantha*, syn. *Brachiaria brizantha*), ingerida pelos animais.

	Tratamentos			Média
	SM	UC	UP	
MS (%)	15,61	15,98	14,65	15,41
PB (%)	7,91	7,60	6,83	7,45
FDN (%)	74,46	71,10	73,70	73,09
CZ (%)	7,59	8,49	8,21	8,10
MO (%)	92,41	91,51	91,79	91,90

*MS= matéria seca, PB=proteína bruta, FDN= fibra em detergente neutro, CZ= Cinzas (Material Mineral), MO= matéria orgânica.

Os derivados de purina apresentam efeito para suplementação proteica e para as fontes de NNP utilizadas (Tabela 4), apresentando médias de 3,69 mmol/L e 39,91 g/dia.

TABELA 4. Excreções de derivados de purina, síntese de proteína microbiana e N-microbiano de novilhos mantidos a pasto e suplementados com diferentes fontes de nitrogênio não proteico, em associação a enzimas fibrolíticas.

Item	Suplementos experimentais ¹			EPM ²	Valor de P ³	
	SM	UC	UP		C1	C2
	<i>mmol/L</i>					
Alantoina	2,34	2,30	2,30	0,03	0,437	0,623
Ácido urico	0,72	0,93	1,84	0,34	0,005	0,007
Total	3,03	3,19	4,19	0,35	0,019	0,042
	<i>mmol/dia</i>					
Alantoina	32,30	34,83	40,55	0,34	0,014	0,045
Ácido urico	9,88	21,61	28,85	4,74	0,002	0,235
Total	42,18	56,44	69,40	6,21	0,007	0,013
Purinas abs	30,18	54,00	55,77	9,85	0,014	0,302
	<i>g/dia</i>					
Nmicrobiano	21,94	39,26	40,55	6,52	0,018	0,821
PBmicrobiano	137,16	245,39	253,45	7,67	0,018	0,821

C1 (SM vs UC+UP)

C2 (UC vs UP)

Segundo Perez et al, (1996), a quantificação da síntese de proteína microbiana em bovinos pelo método da excreção urinária de derivados de purina indica que o fluxo duodenal

de ácidos nucleicos é essencialmente de origem microbiana e, após a digestão intestinal dos nucleotídeos de purinas, as bases adenina e guanina são catabolizadas e excretadas proporcionalmente na urina como derivados de purinas, principalmente alantoína, e também ácido úrico.

Foi observado que as concentrações de alantoína (mmol/L) e ácido úrico (mmol/dia) não tiveram diferença significativa quando comparadas a ureia convencional com a ureia de liberação lenta, porém foi observado diferença significativa nas concentrações de alantoína (mmol/dia) e ácido úrico (mmol/L) quando comparadas UC com UP. No entanto, foi observado que não houve diferença significativa na síntese de proteína microbiana quando comparamos UC com UP.

Foi observado diferença significativa quando comparados as dietas com fonte de nitrogênio não proteico com a dieta controle conforme a Tabela 4. Resultados semelhantes foram observados por (GARDINAL, 2011) em avaliação da utilização de ureia encapsulada em dietas de novilhos nelore e seus efeitos sobre a produção microbiana ruminal.

Para o total de purinas absorvidas também não houve efeito significativo quando comparamos as duas fontes de nitrogênio não proteico, porém houve efeito quando comparadas ao controle conforme (tabela 4). Os valores das purinas absorvidas são semelhantes aos encontrados por (RENNO, 2003) em avaliação de novilhos alimentados com diferentes níveis de inclusão de ureia na dieta.

Para a síntese de proteína microbiana expressa em g/dia houve diferença significativa quando comparamos as duas fontes de nitrogênio não proteico com o controle, porém não houve efeito significativo entre as duas fontes de nitrogênio não proteico utilizadas.

Ou seja, a síntese de proteína microbiana em animais suplementados com fonte de nitrogênio não proteico (ureia), tiveram maior síntese de PB microbiano que animais suplementados apenas com sal mineral. Conforme descrito por Detmann et al. (2010; 2014), a avaliação dos pastos tropicais durante o período chuvoso indica que há um desequilíbrio na relação proteína:energia (P:E), com excesso relativo de energia, Isso indica diretamente que os programas de suplementação a serem utilizados neste período devem focar prioritariamente o estabelecimento de um equilíbrio dietético que envolva a elevação da concentração dietética de proteína para que o excedente relativo de substratos energéticos da forragem possa ser transformado em produto animal. A maior síntese de PB microbiana pode ser explicada então pelo fato de se fornecer nitrogênio não proteico consegue-se estabelecer melhor um equilíbrio dietético entre energia e proteína. Conforme dados observados por (SOUZA, 2017) em animais a pasto suplementados com ureia o consumo de forragem teve um aumento

significativo quando comparado com controle, o que pode se inferir que há maior síntese de proteína microbiana no rumem em animais a pasto suplementados com ureia.

O resultado obtido quando comparamos as duas dietas com fontes de ureia contraria as observações feitas por (FERREIRA et al. 2005) onde descreve que as fórmulas de nitrogênio não proteico de liberação lenta, proporcionam uma maior eficiência ao metabolismo animal, com economicidade e aumento da produtividade. E observações feitas por (AKAY et al., 2004). onde descreve que a liberação lenta de nitrogênio pode chegar até 24 a 36 horas após ingestão, proporcionando um melhor sincronismo com a liberação de energia da dieta, tornando mais eficiente a conversão do nitrogênio em proteína microbiana. O resultado obtido quando comparadas as duas fontes de nitrogênio não proteico pode ser explicado pelo fato de que não houve um excesso de nitrogênio pois os animais não consumiram de imediato o suplemento, ou seja não teve um pico de nitrogênio no rumem e assim a ureia convencional teve efeito semelhante a ureia de liberação lenta.

5. CONCLUSÃO

A suplementação proteica para animais mantidos a pasto melhora a síntese de proteína microbiana. Não é proporcionada alteração na síntese de N proveniente da síntese de proteína microbiana dos animais entre as fontes de NNP.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, M, A, et al., Síntese de proteína microbiana e concentração de ureia em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira *Opuntia* Semina: **Ciências Agrárias** 2015, 36 (Marzo-Abril) : Disponível em : <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744147031>. Acesso em: 17/08/2017.

BEATY, J.L.; COCHRAN, R.C.; LINTZENICH, B.A. et al. Effect of frequency of supplementation and protein concentration in supplements on performance and digestion characteristics of beef cattle consuming low-quality forages. **Journal of Animal Science**, v.72, n.9, p.2475-2486, 1994.

BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. The potential use of feed enzymes for ruminants. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 1996, New York. Proceedings... New York: Rochester Marriott Thruway Hotel, p.131-141, 1996.

BOWMAN, J. G. P.; ASPLUND, J. M. Evaluation of mixed Lucerna and Caucasian bluestem hay diets fed to sheep. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 20, n. 01, p. 19-31, 1988.

DETMANN, E. ; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Otimização do uso de recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa. Anais... Viçosa: DZO-UFV, 2010. p. 191-240.

EUCLIDES, V.P.B.; MEDEIROS, S.R. Suplementação animal em pastagens e seu impacto na utilização da pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 22, 2005, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Fealq, 2005. p.33-70

FERREIRA, R.N.; OLIVEIRA, E.R.; ORSINE, G.F. et al. Liberação de nitrogênio amoniacal no rúmen com o uso de ureia encapsulada com polímero (Optigen® 1200 Alltec). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. Anais... Goiânia: SBZ, 2005.

FUJIHARA, T.; ÆRSKOV E.R., REEDS, P.J. et al. 1987. The effect of protein infusion on

urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. ***Journa of Agricultural Science.***, 109:7-12.

GALO E, Emanuele SM, Sniffen CJ et al. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. **Journal Dairy Science.** 86: 2154–2162. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982015000900327. Acesso em: 12/08/2017.

GALO, E., EMANUELE, S. M., SNIFFEN, C. J.; WHITE, J. H.; KNAPP, J. R., Effects of a Polymer-Coated Urea Product on Nitrogen Metabolism in Lactating Holstein Dairy Cattle. Disponível em: [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(03\)73805-3/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(03)73805-3/pdf). Acesso em: 12/08/2017.

GARDINAL, R. Utilização de ureia encapsulada de liberação lenta na alimentação de novilhos Nelore. 110 f. Dissertação (Mestrado em ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga,2011. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10135/tde-03102012-135741/pt-br.php>. Acesso em: 12/08/2017.

GONÇALVES C.C. M. Desempenho de bovinos de corte no pasto suplementados com misturas múltiplas contendo uréia e amiréia. *Ciências Agrotécnicas*, Lavras. v 28 n 1. 174-181.2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542004000100023&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 12/08207.

HESS, B.W., KRYSL, L.J., JUDKINS, M.B. et al. 1996. Supplemental corn or wheat bran for steers grazing endophyte-free fescue pasture: effects on live weight gain, nutrient quality, forage intake, particulate and fluid kinetic, ruminal fermentation, and digestion. **Journal of Animal Science**, 74(5):1116-1125. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8726745>. Acesso em: 31/07/2017.

HESS, B.W.; PARK, K.K.; KRYSL, L.J. et al. Supplemental protein for beef cattle grazing dormant intermediate wheat grass pasture: Effects on nutrient quality, forage intake, digesta kinetics, grazing behavior, ruminal fermentation, and digestion. *J. Anim. Sci.*, v.72, p. 2113-2123, 1994. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7982842>. Acesso em

31/072017.

IBÁÑEZ, E. M. A.; MARTÍNEZ, G.D.M.; JUÁREZ, J.A.R. et al. Efeito de enzimas fibrolíticas a degradação microbiana ruminal da fibra de cana-de-açúcar. *Ciência Animal Brasileira* Goiânia, v. 11, n. 3, p. 488-495, 2010. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/4796/8600>. Acesso em: 31/07/2017.

LANA, R. P. Sistema de Suplementação Alimentar para Bovinos de Corte em Pastejo: Simulação. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2002, vol.31, n.1 p.223-231. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982002000100025. Acesso em: 28/07/2017.

LEAL, T. L.; Valadares, R, F. D.; Valadares F. , et al. 2007. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.4, p.896-904. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v36n4/21.pdf>. Acesso em: 15/08/2017.

LEITE, V. B. O.; BRAGA, G. J.; MANELLAET M.. Ureia protegida é opção na suplementação de bovinos de corte Disponível em: <http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2010/2010-julho-dezembro/806-ureia-prottegida-e-opcao-na-suplementacao-de-bovinos-de-corte/file.html>. Acesso em: 12/08/2017.

LOURES, D.R.S.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F. et al. Efeito de enzima fibrolítica e do teor de matéria seca em silagens de capim-tanzânia sobre os parâmetros ruminais, o comportamento ingestivo e a digestão de nutrientes, em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, v. 34, n. 3, June 2005. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982005000300004.

MARCHESIN, W.A.; HERLING, V.R.; LUZ, P.H.C. et al. Níveis da substituição da ureia de suplementos proteicos por ureia encapsulada na recria de machos da raça Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais/CD-ROM. João Pessoa: SBZ, 2006.

MARTINS, A.S.; VIEIRA, P.F.; BERCHIELLI, T.T. et al. Consumo e digestibilidade aparente total em bovinos sob suplementação com enzimas fibrolíticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.2118-2124, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982006000700032&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 12/08/2017.

McMENIMAN, N.P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34. Juiz de fora, 1997. Anais... Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. p.131- 168.

MINSON, D.J. Forage in ruminant nutrition. Academic Press: New York. 483p. 1990

MIRANDA, G, A. Enzimas fibrolíticas em dietas de novilhas leiteiras. 40f -- Dourados: UFGD, 2017. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2017.

NETO, P. C. O. ; CASETA, M. C.; BASSO, K. C. Uso da suplementação proteica energética como forma de agregar resultados de desempenho e valor econômicos em sistemas de engorda a pasto. Cadernos de Pós-Graduação da FAZU, v.3, Uberaba, 2012. Disponível em: <http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/viewFile/509/379>. Acesso em: 31/08/2017.

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

PESSOA R. A. et al. Nitrogenous compounds balance and microbial protein production in crossbred heifers fed forage cactus, sugar cane bagasse and urea associated to different supplements. **Brazilian Journal of Animal Science**. 38:941–947. 2009.

Prado I. N., & Moreira F. B.. Suplementação de pastagem de gado e alimentos para animais utilizados em bovinos. EDUEM, UEM. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; p. 162. 2002.

PUPO, N.I.H. Manual de pastagens e forrageiras: formação, conservação, utilização. Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 343p. Campinas, 1979.

RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. Revista Brasileira de Zootecnia, v.29, p.1223-1234, 2000. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982000000400037&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 04/08/2017.

RIBEIRO, D. A.; Mooser, A. F. Uso da ureia na suplementação de ruminantes. Disponível em: <https://www.scotconsultoria.com.br/imprimir/noticias/21225>. Acesso em: 01/08/2017.

SANTOS, F. A. P.; COSTA, D. F. A.; GOULART, R. C. D. Suplementação de bovinos de corte em pastagens: conceitos atuais e aplicações. In: Simpósio sobre manejo da pastagem, Anais, Piracicaba, p. 273-296, 2007.

SOUZA, C.J.S. Consumo e digestibilidade de nutrientes de novilhos a pasto suplementados com diferentes fontes de nitrogênio não proteico associado a enzima fibrolítica. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2017.

STIVARI, T.S.S. et al. Aditivos enzimáticos na alimentação de ruminantes: estratégia para a produção animal. **PUBVET**, Londrina, V. 8, N. 11, Ed. 260, Art. 1728, Junho, 2014. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/uploads/a5625f6752538b7a6f91d2220759736a.pdf>. Acesso em: 31/07/2017.

SUSMEL, P., STEFANON, B., PLAZZOTA, E. et al. 1994. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, 123:257-266.

TEDESCHI, L.O.; BOIN, C.; FOX, D.G. et al. Energy requirement for maintenance and growth of Nellore bulls and steers fed high-forage diets. *Journal of Animal Science*, v.80, p.1671-1682, 2002. Disponível em: https://www.academia.edu/24600037/Energy_requirement_for_maintenance_and_growth_of_Nellore_bulls_and_steers_fed_high-forage_diets_L._O._Tedeschi_C._Boin_D._G._Fox_P._R._Leme_G._F._Alleoni_and_D._P._L_anna. Acesso em: 05/08/2017.

THIAGO, L. R. L.; SILVA, J. M. Suplementação de bovinos em pastejo. Embrapa – Documentos, 108, ISSN 1517-3747, MS, 2001.

VAGNONI, D.B., BRODERICK, M.K., CLAYTON, R.D. et al. 1997 Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, 80:1695-1702.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of ruminant. 2. ed. New York: Cornell University Press, 1994

VERBIC, J., CHEN, X.B., MACLEOD, N.A. et al. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, 114(3):243-248.

ZERVOUDAKIS, J. T.; SILVA, L. C. R. P.; SILVA, R. P. et al. Otimização do desempenho de bovinos por meio da suplementação à pasto. In: SIMPÓSIO MATOGROSSENSE DE BOVINOCULTURA DE CORTE, 1, 2011, Cuiabá. Anais... Cuiabá: I SIMBOVMT, 2011. v. 1, p. 151-189. Disponível em: <http://www.ufmt.br/ufmt/unidade/userfiles/publicacoes/db883d794d87418c9e8fd513dcff03ed.pdf>. Acesso em: 01/08/2017.

ZIGUER, E. A.; ROLL, V. F. B.; BERMUDEZ, R. F.; MONTAGNER, et al. Desempenho e perfil metabólico de cordeiros confinados utilizando casca de soja associada a diferentes fontes de nitrogênio não-proteico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 2, p. 449– 456, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v41n2/a30v41n2.pdf>. Acesso em: 05/08/2017.