RESPOSTA DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM POLPA CÍTRICA EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO, À SUPLEMENTAÇÃO COM METIONINA E À ENSILAGEM DE GRÃOS DE MILHO DURO OU DENTADO

FLÁVIO MARCOS JUNQUEIRA COSTA

2008

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

FLÁVIO MARCOS JUNQUEIRA COSTA

RESPOSTA DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM POLPA CÍTRICA EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO, À SUPLEMENTAÇÃO COM METIONINA E À ENSILAGEM DE GRÃOS DE MILHO DURO OU DENTADO.

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para a obtenção do titulo de "Doutor".

Orientador
Prof. Doutor Marcos Neves Pereira

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da UFLA

Costa, Flávio Marcos Junqueira.
Resposta de vacas leiteiras alimentadas com polpa cítrica em substituição ao milho, à suplementação com metionina e à ensilagem de grãos de milho duro ou dentado / Flávio Marcos Junqueira Costa. – Lavras: UFLA, 2008.
122 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.
Orientador: Marcos Neves Pereira.
Bibliografia.

1. Silagem. 2. Endosperma. 3. Aminoácidos. 4. Nutrição animal. 5. Bovinos de leite I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.2142
636.08552

FLÁVIO MARCOS JUNQUEIRA COSTA

RESPOSTA DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM POLPA CÍTRICA EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO, À SUPLEMENTAÇÃO COM METIONINA E À ENSILAGEM DE GRÃOS DE MILHO DURO OU DENTADO

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para a obtenção do titulo de "Doutor".

APROVADA em 29 de Fevereiro de 2008

Profª. Adriana de Souza Coutinho – DSc – (DMV – UFLA)

Profª. Nadja Gomes Alves – DSc – (DZO – UFLA)

Prof. Ronaldo Braga Reis – PhD – (EV – UFMG)

Prof. Sandro César salvador – DSc – (DMV – UFLA)

Prof. Doutor Marcos Neves Pereira
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

À minha esposa Gabriella e minha filhinha Helena,

E a Gabriel Flávio Carneiro "*in memorian*",

Dedico

Aos meus pais Ernani e Lílian e minha irmã Liliane,

Ofereço

Agradecimentos

A Deus pela vida e por todas as oportunidades que tive.

Ao meu orientador, Prof. Marcos Neves Pereira, pelo exemplo de dedicação, amizade e por ter tido um impacto significativo e positivo na minha trajetória de vida.

Aos professores Sandro César Salvador, Ronaldo Braga Reis, Nadja Gomes Alves, Adriana de Souza Coutinho e Elias Tadeu Fialho.

Aos amigos José Ricardo, Gilson, Junio, "Renatinha" e "Bambuí" pela ajuda valiosa em vários momentos desse trabalho.

Aos integrantes do Grupo do Leite sem os quais não seria possível a realização desse trabalho.

À Fazenda São Francisco.

À Renata Apocalypse Nogueira Pereira pelo incentivo contínuo.

Aos amigos de todos os momentos Gustavo "Melecão" e Ozana.

A Universidade Federal de Lavras e ao departamento de Zootecnia.

Ao CNPq e a Capes.

A Novus do Brasil.

A todos os professores e colegas de pós-graduação pela convivência e aprendizado.

A todos meus familiares e amigos que sempre acreditaram e torceram por mim.

À minha esposa Gabriella pela paciência e por ter sido uma fonte de luz nos momentos mais difíceis.

A meu pai Ernani, pelo exemplo de vida, e minha mãe Lílian, por ter sido a força motriz de minha formação humana e profissional.

A Eric e Leila Russel e à família “Gomes Fernandes”, por terem contribuído significativamente na minha formação intelectual e humana.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente nesse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

Página

RESUMO i

ABSTRACT iii

CAPÍTULO I 1

1 INTRODUÇÃO 2

2 REVISÃO DA LITERATURA 5

2.1 O alimento farelo de polpa de citros 5

2.1.1 Descrição e produção 5

2.1.2 Composição do farelo de polpa cítrica 6

2.1.3 Metabolismo ruminal 8

2.1.3.1 Degradabilidade da polpa cítrica e do milho 8

2.1.3.2 Perfil de ácidos graxos voláteis e amônia no rúmen 10

2.1.4 Desempenho de vacas leiteiras 12

2.1.4.1 Produção de leite 12

2.1.4.2 Gordura do leite 14

2.1.4.3 Proteína do leite 16

2.1.5 Eficiência da síntese de proteína microbiana a partir de pectina, sacarose ou amido 17

2.1.6 Perfil de fermentação, insulina e proteína no leite 20

2.2 Degradação da matriz protéica e ensilagem de milho úmido 22

2.3 Aminoácidos em nutrição de gado leiteiro 23

2.3.1 Introdução 23

2.3.2 Aminoácidos limitantes para produção de leite 25

2.3.3 Predição do aporte e da exigência de aminoácidos essenciais em vacas leiteiras 27

2.3.4 Metionina 30

2.3.4.1 Síntese de creatina e creatinina 32

2.3.4.1.1 Creatinina, excreção urinária e nutrição 33

2.3.4.2 Resposta em desempenho à suplementação com metionina 35

2.3.4.3 Metabolismo e absorção de metionina hidroxi análogo 38

2.3.4.4 Metionina hidroxi análogo e desempenho animal 41

2.3.4.5 Metionina hidroxi análogo e metabolismo microbiano no rúmen 43

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 45

CAPÍTULO II 60

RESUMO 61

ABSTRACT 62

1 INTRODUÇÃO 63

2 MATERIAL E MÉTODOS 65

2.1 Análises Estatísticas 71

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 72

4 CONCLUSÕES 80

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 81

CAPÍTULO III 87

RESUMO 88

ABSTRACT 89

1 INTRODUÇÃO 90

2 MATERIAL E MÉTODOS 93

2.1 Análises estatísticas 97

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 98

4 CONCLUSÕES 111

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 112

ANEXO 119

APÊNDICE 122

RESUMO

COSTA, Flávio Marcos Junqueira. **Resposta de vacas leiteiras alimentadas com polpa cítrica em substituição ao milho, à suplementação com metionina e à ensilagem de grãos de milho duro ou dentado.** 2008. 122 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.[1]

A utilização de polpa de citros em substituição ao milho é uma alternativa para formular dietas para vacas em lactação. Entretanto, alta inclusão dietética de polpa de citros, ou milho com alta proporção de endosperma vítreo, podem reduzir a secreção de proteína no leite. O objetivo deste trabalho foi avaliar duas estratégias possíveis em dietas com alta inclusão de polpa de citros e milho de textura dura. No primeiro experimento, doze vacas holandesas receberam uma sequência de quatro tratamentos, em três quadrados latinos 4x4, com períodos de 21 dias. Os tratamentos foram: milho duro (Tork) ou dentado (AG 4051) ensilados no estágio de maturação de linha negra, num arranjo fatorial de tratamentos a 9% ou 18% da matéria seca (MS) dietética. A polpa de citros peletizada substituiu o milho na dieta na dieta de baixo amido, o conteúdo dietético deste subproduto foi 16,2 ou 25,6% da MS. Outros ingredientes foram (% da MS): 33,9% silagem de milho (47,7% fibra em detegente neutro (FDN)), 15,6% de feno de tifton (73,6% FDN), 13,6% de farelo de soja e 0,85% de uréia. As dietas continham 50% de forragem, 15,3% de proteína bruta (PB) e 27,7% de FDN oriundo de forragens. As dietas de alto amido diminuíram o teor de gordura do leite (3,38 *vs* 3,26%, *P*=0,04) e aumentaram o teor de proteína de 2,99 para 3,03% (*P*=0,05). O consumo diário de matéria orgânica digestível foi 11,7 kg para milho duro e 12,3 kg para milho dentado (*P*=0,05). Não foi detectado efeito de dureza do endosperma sobre o desempenho animal. No segundo experimento, vinte vacas Holandesas, receberam uma seqüência de quatro tratamentos, em cinco quadrados latinos 4x4, com períodos de 25 dias. Um arranjo fatorial 2x2 de dois fatores definiu os quatro tratamentos: substituição total, ou não, de milho por polpa cítrica, com ou sem 20 g/vaca/d de metionina hidroxi-análogo (Alimet®, Novus do Brasil, Porto Alegre, RS). O teor dietético de PB foi 17% da MS, e o de FDN nas dietas com milho foi 31,9% e nas dietas com polpa cítrica foi 34,7%. As inclusões de milho e polpa cítrica foram 24,7 e 25,4% da MS, respectivamente. Outros ingredientes foram (% da MS): silagem de milho 47,5; caroço de algodão 10,5 e farelo de soja 13,8 nas dietas com milho e 14,5 nas dietas com polpa. A substituição de milho por polpa

[1]**Comitê Orientador**: Prof. Marcos Neves Pereira – UFLA (Orientador), Prof. Renzo Garcia Von Pinho- UFLA, Prof. João Chrysostomo de Resende Júnior- UFLA

cítrica diminuiu o consumo de MS (21,3 *vs*. 20,4 kg, $P<0,01$), a secreção de proteína do leite (0,857 *vs*. 0,826 kg, $P=0,05$), e o teor de proteína (3,03 *vs*. 2,97%, $P<0,01$) e de lactose (4,64 *vs*. 4,55%, $P<0,01$). As dietas com polpa cítrica tenderam a ser mais eficientes na conversão do alimento consumido em leite (1,34 *vs*. 1,38 $P=0,06$). A suplementação com metionina-hidroxi análogo tendeu a aumentar a concentração de creatinina na urina (5,69 *vs*. 6,44 mM, $P=0,06$), porém não compensou o efeito negativo da substituição total de milho por polpa cítrica sobre a secreção diária de proteína no leite.

ABSTRACT

COSTA, Flávio Marcos Junqueira. **Performance of dairy cows fed citrus pulp in substitution to corn, to the supplementation with methionine and to the ensilaging of flint or dent corn grain.** 2008. 122 p. Thesis (Doctor in Animal Science Program) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.[2]

The utilization of citrus pulp in substitution to corn is an alternative to formulate diets for lactating dairy cows. However, high dietary inclusion of citrus pulp, or corn with high proportion of vitreous endosperm, may reduce milk protein secretion. The objective of this experiment was to evaluate two possible strategies for diets with high inclusion of citrus pulp and hard texture corn. In the first experiment, twelve Holstein cows received a sequence of four treatments, in three, 21-day period, 4x4 latin squares. Treatments were: Flint (Tork) or dent (AG 4051) corn ensiled at the black layer stage of maturity, in a factorial arrangement of treatments at 9% or 18% of diet dry matter (DM). Pellets of citrus pulp replaced corn in the low starch diet, the dietary content of this byproduct was 16.2 or 25.6% of DM. Other feed ingredients were (% of DM): 33.9% corn silage (47.7% neutral detergent fiber(NDF)), 15.6% tifton hay (73.6% NDF), 13.6% soybean meal and 0.85% urea. Diets contained 50% forage, 15,3% crude protein (CP) and 27.7% NDF from forages. The high starch diets decreased milk fat content from 3.38 to 3.26% (P=0.04) and increased milk protein content from 2.99 to 3.03% (P=0.05). The daily intake of digestible organic matter was 11.7 kg for flint and 12.3 kg for dent corn (P=0.05). There was no detectable effect of endosperm hardness on animal performance. In the second experiment twenty Holstein cows received a sequence of four treatments in five, 25-day period, 4x4 latin squares. A 2x2 factorial arrangement of two factors defined the four treatments: complete replacement, or not, of corn by citrus pulp, with or without 20 g/cow/d of methionine hydroxy-analog (Alimet®, Novus do Brasil, Porto Alegre, RS). The dietary content of PB was 17,0% of DM, and NDF content was 31.9% in the corn diets and 34.7% in the citrus pulp diets. The inclusions of corn and citrus pulp were 24.7 and 25.4% of DM, respectively. Other ingredients were (% of DM): corn silage 47.5, whole cottonseed 10.5., soybean meal 13.8 in the corn diets and 14.5 in the citrus pulp diets. Replacing corn with citrus pulp decreased DM intake (21.3 *vs*. 20.4 kg, P<0.01), the secretion of milk protein (0.857 *vs*. 0.826 kg, P=0.05), and the

[2]**Graduate Committee**: Prof. Marcos Neves Pereira – UFLA (Major Professor), Prof. Renzo Garcia Von Pinho- UFLA, Prof. João Chrysostomo de Resende Júnior- UFLA

content of protein (3.03 *vs*. 2.97%, $P<0.01$) and lactose (4.64 *vs*. 4.55%, $P<0.01$). The citrus pulp diets tended to be more efficient in converting feed consumed into milk (1.34 *vs*. 1.38 $P=0.06$). The supplementation with methionine hydroxy-analog tended to increase the concentration of creatinine in urine (5.69 *vs*. 6.44 mM, $P=0.06$), although it was not able to compensate for the negative effect of complete substituting corn by citrus pulp upon the daily secretion of milk protein.

CAPÍTULO I

RESPOSTA DE VACAS EM LACTAÇÃO À SUPLEMENTAÇÃO COM PRECURSOR DE METIONINA E À ENSILAGEM DE GRÃOS DE MILHO DE TEXTURA DURA OU MACIA EM DIETAS ONDE O MILHO FOI SUBSTITUÍDO POR POLPA CÍTRICA

1 INTRODUÇÃO

No sudeste brasileiro, o uso de polpa de citros em substituição ao milho é uma alternativa para formular dietas para vacas em lactação, já que o Brasil é o maior produtor mundial deste subproduto, sendo a produção concentrada no estado de São Paulo (Associação Brasileira dos Exportadores de Citrus (Abecitrus), 2008). O aumento no preço internacional do milho, devido ao seu uso para produção de biocombustíveis (Carvalho, 2007), torna esta estratégia alimentar ainda mais atrativa. Essa substituição dietética, além de ser interessante financeiramente, pode também se justificar pela baixa degradabilidade ruminal do amido nos híbridos de milho brasileiros (Corrêa et al., 2002). Devido às práticas entre a colheita e o armazenamento dos grãos, a indústria brasileira de sementes de milho optou por híbridos do tipo duro, com textura dura do endosperma. Grãos duros, de alta vitreosidade, têm endosperma rico em matriz protéica, o que limita a degradabilidade do amido no rúmen (McAllister et al., 1993; Philippeau et al., 1999).

A queda na degradabilidade ruminal com o avançar do estádio de maturação da planta é maior em híbridos do tipo duro, comparativamente a híbridos de endosperma dentado (Shaver, 2003; Pereira et al., 2004). Portanto, o efeito da textura do grão sobre a fermentabilidade do amido no rúmen tende a ser mais marcado quando os grãos se aproximam do estádio maduro de maturação. Quando se introduziu quantidade de polpa cítrica equivalente a 0,8% do peso vivo do animal, por cânula ruminal em vacas não lactantes, a queda no pH ruminal foi mais acentuada que a queda observada quando a mesma quantidade de milho maduro do tipo duro foi introduzida nos mesmos animais (Costa et al., 2003). A digestibilidade da polpa cítrica pode ser semelhante ou maior, que a do milho do tipo duro em estádio maduro de maturação (Pereira et al., 2007).

A polpa cítrica é rica em carboidratos fibrosos e em pectina e sacarose de alta digestibilidade (Miron et al., 2001). Entretanto, o crescimento dos microorganismos ruminais, à base de pectina, parece ser distinto do crescimento à base de amido (Marounek & Dusková, 1999; Hall & Herejk, 2001). A diferença no fluxo de aminoácidos microbianos do rúmen pode explicar parte da resposta negativa em produção e/ou teor de proteína no leite quando a polpa cítrica substitui milho na dieta de vacas leiteira de alta produção (Solomon et al., 2000; Leiva et al., 2000; Broderick et al., 2002; Salvador et al., 2008b). O uso de híbridos de milho capazes de reduzir a disponibilidade do amido no rúmen (Corrêa et al., 2002) também pode reduzir o fluxo ruminal de proteína microbiana.

Estratégias capazes de aumentar o aporte de aminoácidos metabolizáveis para o animal são de interesse recente no Brasil já que compradores de leite introduziram sistemas de pagamento de leite por qualidade, com ênfase em proteína, no ano de 2005 (Dairy Partners Américas (DPA), 2005). A suplementação com fontes de proteína não degradável no rúmen, ricas em aminoácidos limitantes à produção de leite, como farinhas de origem animal, seria uma alternativa para induzir aumento na secreção diária de proteína por vacas em lactação. Entretanto, como medida sanitária preventiva à ocorrência da Encefalopatia Espongiforme Bovina (Doença da Vaca Louca), a alimentação de ruminantes com todas as farinhas de origem animal foi proibida no país, conforme a Instrução Normativa nº 8 de 25 de março de 2004, publicada no Diário Oficial da União, nº 59, sessão 1, página 5, em 26 de março de 2004 (Brasil, 2004). A suplementação com metionina hidroxi análogo pode ser uma estratégia para aumentar o fluxo de metionina metabolizável em ruminantes (Koenig et al., 1999). Esta estratégia alimentar poderia aumentar a secreção de proteína no leite, tanto em dietas formuladas com alta inclusão de polpa cítrica como em dietas onde a degradabilidade do amido do milho no rúmen é baixa.

Uma estratégia capaz de aumentar a degradabilidade ruminal do amido, em grãos com textura dura do endosperma, seria a colheita do grão antes do estádio maduro e a indução de degradação da matriz protéica por ensilagem com a conseqüente proteólise por enzimas microbianas durante este processo (Baron et al., 1986; McAllistter et al., 1993). A ensilagem do grão de milho no estádio de maturação de linha negra, a silagem de grão úmido, pode contrapor o efeito negativo da textura sobre a degradabilidade ruminal do amido (Philippeau & Michalet-Doureau, 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar duas estratégias possíveis de serem adotadas em dietas com alta inclusão de polpa cítrica e milho com textura dura do endosperma. No primeiro trabalho, foi avaliado o desempenho de vacas leiteiras alimentadas com dietas nas quais foi realizada substituição parcial de milhos duro ou dentado ensilados no estádio de linha negra, por dois teores dietéticos de polpa cítrica peletizada. No segundo trabalho, foi avaliada a resposta de vacas em lactação à suplementação com metionina na forma do precursor ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutírico, em dietas nas quais milho com textura dura do endosperma, maduro e finamente moído, foi totalmente substituído por polpa de citros.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O alimento farelo de polpa de citros

2.1.1 Descrição e produção

O farelo de polpa cítrica peletizado é obtido dos resíduos sólidos e líquidos do fruto, remanescentes da extração do suco. Os primeiros relatos de utilização da polpa cítrica na alimentação de ruminantes explorados comercialmente são do início do século XX, nos Estados Unidos (Arthington et al., 2002). O primeiro teste experimental publicado sobre a utilização de resíduos desidratados de citros para gado leiteiro foi realizado por Scott (1926). A utilização de resíduos cítricos sem prévia desidratação é possível e comum em algumas situações, no entanto, torna-se mais difícil por questões de estocagem, transporte e manejo alimentar (Bampidis & Robinson, 2006).

O Brasil é o principal produtor mundial de laranja, a produção média dos últimos quatro anos foi de 350 milhões de caixas de 40,8 kg (Abecitrus, 2008). O consumo interno e a exportação da laranja *in natura* consomem cerca de 100 milhões de caixas. Sendo assim, em torno de 250 milhões de caixas, ou 11.000.000 toneladas de fruta, foram destinadas para transformação em suco. Entre os resíduos do suco de laranja estão cascas, sementes e polpa. Esse material equivale à aproximadamente 50% do peso de cada fruta e apresenta umidade em torno de 82% (Yamanaka, 2005). A produção total de resíduo de laranja no Brasil, no ano de 2006, foi ao redor de 5.500.000 toneladas, ou cerca de 1.200.000 toneladas de farelo de polpa cítrica contendo 90% de matéria seca. Desse total, 800.000 toneladas de farelo de polpa cítrica foram exportadas no ano safra 2006/07 (Abecitrus, 2008). Em torno de 400.000 toneladas estariam

disponíveis para consumo interno. Esse dado é coerente com a comercialização de aproximadamente 380.000 toneladas de polpa cítrica no mercado brasileiro no ano de 2007 (Starling, L.A.A., Invest Compras Ltda., Belo Horizonte, comunicação pessoal).

O processo de obtenção do farelo de polpa cítrica consiste de três etapas: Inicialmente, se realiza uma desidratação da massa de resíduos cítricos, com posterior adição de melaço e finalmente, a peletização. No início do processo ocorre adição de hidróxido de cálcio para facilitar a desidratação da massa e promover um ajuste de pH. A quantidade de melaço adicionado ao farelo, determinante do seu teor de sacarose, depende da remoção necessária para padronização do teor de açúcares do suco, que varia com o teor de açúcares do fruto ao longo do período de colheita (Yamanaka, 2005).

2.1.2 Composição do farelo de polpa cítrica

A polpa de citros é um alimento energético de baixo teor lipídico. A polpa é um alimento com potencial de utilização não competitiva por ruminantes, pois mais da metade de sua matéria seca é composta por substâncias pécticas e fibra em detergente neutro (FDN) (Hall et al., 1998). A digestão dos nutrientes que prevalecem na polpa exige sistemas enzimáticos anaeróbicos de origem microbiana, não sendo digestíveis por enzimas de mamíferos ou aves (Van Soest, 1994).

Uma metodologia para descrever os carboidratos nos alimentos foi descrita por Hall et al. (1997). Por este método, a fibra solúvel em detergente neutro (FSDN), composta majoritariamente por pectina, na polpa cítrica, é determinada por lavagem da amostra com solução de etanol. Esse procedimento visa separar carboidratos de baixo peso molecular, majoritariamente sacarose, na polpa cítrica, de oligossacarídeos. Cerca de: 25 a 30% da polpa cítrica é

composta por pequenos carboidratos, representados pela diferença entre o total de carboidratos não fibrosos (CNF) e a FSDN nesse alimento (TABELA 1). O resíduo solúvel em etanol foi 25,8% da amostra analisada no trabalho de Hall et al. (1999). As análises de amido, realizadas nos três trabalhos que estimaram a FSDN atestam que o teor desse polissacarídeo na polpa de citros é próximo de zero. O teor de amido no resíduo insolúvel em etanol foi: 1,1% (Hall et al., 1997), 1,1% (Hall et al., 1998) e 0% (Hall et al., 1999).

A FSDN contém componentes da célula (frutanos) e da parede celular (substâncias pécticas e β-glucanos). Na polpa cítrica a FSDN pode representar entre 25 e 44% da matéria seca (Hall et al., 2002). Estimativas do perfil de fermentação *in vitro* da FSDN de polpa de citros foi similar ao normalmente obtido com pectina purificada (Hall et al., 1998).

TABELA 1. Composição bromatológica da polpa cítrica.

	----------% MS----------						Referência
MS (% da MN)[1]	PB[2]	FDN[3]	FSDN[4]	EE[5]	Cinzas	CNF[6]	
	6,9	21,6	38,5		7,4		Hall et al. (1997)
	6,4	20,5	34,5	2,5	7,1	63,5	Hall et al. (1998)
	6,4	20,5	35,6	2,5	7,1	63,5	Hall et al. (1999)
91,5	6,7	21,6					Miron et al. (2001)
85,8	6,9	24,2		4,9	7,2	56,8	NRC (2001)

[1] MS (% da MN) = Matéria seca como porcentagem da matéria natural
[2] PB = Proteína bruta
[3] FDN = Fibra em detergente neutro
[4] FSDN = Fibra solúvel em detergente neutro
[5] EE = Extrato etéreo
[6] CNF = Carboidratos não fibrosos = 100 - (FDN + PB + EE + Cinzas)

A pectina é um polissacarídeo contendo mais de 75% de ácido galacturônico. A molécula é formada por uma cadeia linear de ácido galacturônico, interrompida por unidades de ramnose, que induzem desvios abruptos na estrutura molecular. Eventualmente, contém arabinose e galactose,

ligadas em cadeias laterais, com diferentes graus de metilação. A cadeia de ácido galacturônico é ligada por ligações α1-4, similar ao que acontece no amido, porém difere na ligação axial do carbono 4, que é equatorial no amido, não sendo, portanto, susceptível à ação da amilase (Van Soest, 1994).

A fração FDN da polpa de citros tem baixo teor de hemicelulose e lignina, sendo composta basicamente por celulose (Miron et al., 2001). Esses autores verificaram que a composição de nove amostras de polpa cítrica desidratada, oriundas dos Estados Unidos, Espanha e Israel foi de 21,6 ± 0,32 (média ± desvio padrão) de FDN; 21,2 ± 0,53 de FDA; 0,31 ± 0,03 de lignina na FDA e 1,56 ± 0,06 de FDN associado a compostos fenólicos. A hemicelulose, calculada pela diferença entre FDN e FDA, foi 0,4 ± 0,04. A digestibilidade *in vitro* da FDN foi de 70,4 ± 1,28 por cento.

2.1.3 Metabolismo ruminal

2.1.3.1 Degradabilidade da polpa cítrica e do milho

A menor degradabilidade ruminal do amido nos híbridos de milho cultivados no Brasil, comparativamente a híbridos cultivados na América do Norte, foi demonstrada (Corrêa et al., 2002). Os autores estimaram que a degradabilidade efetiva no rúmen do amido de híbridos brasileiros, moídos em peneira de 1 mm e em estádio maduro de maturação, foi cerca de 65% da degradabilidade de híbridos norte-americanos. O milho brasileiro é predominantemente de textura dura, enquanto que na região produtora de milho dos Estados Unidos e da Europa o milho cultivado é quase em sua totalidade dentado (Coors, 1994). Quanto maior a dureza do grão de milho, menor a

disponibilidade do amido no rúmen (Philippeau & Michalet-Doureau, 1997; Philippeau et al., 1999; Corrêa et al., 2002).

Costa (2002) avaliou o efeito da mudança no perfil de carboidratos dietéticos oriundos de milho do tipo duro moído finamente, mediante substituição por polpa cítrica, sobre o ambiente ruminal de vacas. O autor induziu mudança abrupta no ambiente ruminal por pulso em dose única via cânula ruminal, em quantidade equivalente a 0,8% do peso vivo, de polpa cítrica ou de milho moído. O pH ruminal mínimo ao longo de 24 horas pós-pulso foi 5,5 para polpa cítrica e 6,0 para o milho. O pulso de polpa induziu valor mínimo de pH após três horas, enquanto o pH mínimo com milho ocorreu após quatro horas, evidenciando que os carboidratos da polpa foram mais rapidamente fermentados no rúmen que os do milho.

As taxas fracionais de degradação ruminal da FSDN e da FDN da polpa de citros foram estimadas como sendo 13 e 15% h^{-1}, respectivamente (Hall et al., 1998). A cinética da fermentação foi calculada a partir de curvas da produção de gás, gerada pela fermentação *in vitro* dos substratos por culturas mistas de microorganismo ruminais. Assumindo que 35,6% da composição da polpa de citros é FSDN, que 25,8% são mono ou oligossacarídeos e que 20,5% é FDN (Hall et al. 1999), podemos inferir que em torno de 80% da composição do alimento tem potencial de fermentação rápido. Marounek et al. (1985), observaram que a fermentação da pectina *in vitro* foi mais rápida que a de amido e hemicelulose.

Hall & Herejk (2001) mensuraram a produção da proteína microbiana, *in vitro*, por precipitação com ácido tricloroácético, quando o substrato fermentativo foi pectina, amido, sacarose ou fibra. O crescimento microbiano nos estágios iniciais da incubação foi mais rápido com pectina do que com amido. O crescimento microbiano com sacarose foi o mais rápido entre todos os substratos testados e com fibra foi o mais lento. Não obstante, a produção total

de proteína microbiana foi maior para amido que para pectina e sacarose, tendo esses dois últimos substratos, produzido 88 e 86% do crescimento induzido pelo amido. A fermentação da pectina foi rápida, mas atingiu pico de crescimento microbiano antes do pico do amido e, conseqüentemente resultou em declínio mais precoce na síntese de proteína microbiana. Os microorganismos pectinolíticos parecem ser sensíveis à diminuição do pH do meio. A utilização da pectina *in vitro* teve um decréscimo de 53% quando o pH do meio de cultura foi 6,0 em relação ao pH 6,7 (Strobel & Russel, 1986). A fermentação do amido, sacarose ou xilano não foi significativamente afetada pela queda no pH do fluído.

2.1.3.2 Perfil de ácidos graxos voláteis e amônia no rúmen

Os produtos de fermentação da pectina diferem daqueles observados na fermentação do amido. Em geral, os nutrientes metabolizáveis gerados a partir de açúcares ou amido tendem a ser gliconeogênicos, entretanto, a partir de pectina e fibra, são lipogênicos. A substituição do amido de cereais por polpa cítrica na dieta tende a aumentar a relação entre acetato e propionato no ambiente ruminal (Vijchulata et al., 1980; Ben-Ghedalia et al., 1989; Rocha Filho et al., 1999; Leiva et al., 2000; Ariza et al., 2001; Broderick et al., 2002; Salvador et al., 2008a).

Broderick et al. (2002) compararam dietas contendo polpa cítrica com dietas contendo silagem de grão de milho úmido ou milho maduro moído para vacas leiteiras. A dieta com polpa induziu o aumento na concentração ruminal de acetato e na relação entre acetato e propionato, consistente ao observado quando se fermentou pectina *in vitro* (Marounek et al., 1985). Não foi detectada diferença significativa na concentração ruminal de amônia entre os tratamentos com grão úmido ensilado e polpa de citros. Não obstante, a concentração de

amônia no fluído ruminal foi maior nas dietas com milho maduro moído. Esses resultados sugerem que a fermentabilidade no rúmen, dos carboidratos da polpa cítrica, foi similar ao milho ensilado quanto à capacidade de captação de amônia via crescimento microbiano, enquanto o milho maduro moído foi de fermentabilidade mais lenta. Ariza et al. (2001) também observaram queda no teor de amônia, em cultivo contínuo *in vitro*, em dietas com polpa de citros relativamente a dietas com milho.

O nitrogênio uréico no leite de vacas pastejando azevém foi maior nas dietas com cevada em relação a dietas com milho ou polpa de citros (Gheman et al., 2006). Quatorze vacas Holandesas receberam uma seqüência de três concentrados em delineamento do tipo Quadrado Latino 3x3, que foram incompletos devido à morte de um animal no início do período experimental. Os concentrados continham (% da MS): 61,4 de milho ou 26,3 de milho, 26,3 de cevada e 8,8 de melaço ou 26,3 de milho, 26,3 de polpa de citros e 8,8 melaço. A quantidade fornecida de concentrado foi baseada na produção de leite antes do experimento, na relação de 1 kg de concentrado para cada 4 kg de leite produzido. Os valores de nitrogênio uréico no leite (NUL) e no plasma (NUP) foram baixos, em torno de 11 mg/dl, podendo ser reflexo do baixo teor protéico na forragem. Apesar da velocidade de degradação do amido da cevada ser sabidamente alta, a dieta com concentrado baseado em cevada teve NUL de 11,4 mg/dl, significativamente maior que nas dietas com milho ou polpa cítrica, 10,1 e 9,9 mg/dl, respectivamente. O concentrado contendo polpa cítrica induziu concentração de NUP, onze horas após a alimentação, menor que o concentrado com milho. A tendência de diminuição no teor de amônia no plasma, também foi observada, em garrotes alimentados com bagaço de cana e uréia com teores dietéticos crescentes de polpa cítrica em substituição ao milho (Pinzon & Wing, 1976). Estes trabalhos sugerem que a fermentabilidade da polpa cítrica no rúmen pode ser mais rápida que a do milho.

2.1.4 Desempenho de vacas leiteiras

2.1.4.1 Produção de leite

A produção de leite de vacas leiteiras, consumindo dietas onde a polpa de citros substituiu o milho, tem sido similar ou inferior ao tratamento com maior inclusão de milho (TABELA 2). Excetuando-se o trabalho de Tavares et al. (2005), os outros seis trabalhos citados foram conduzidos com vacas leiteiras de alta produção. Em dois trabalhos conduzidos com vacas de alta produtividade, a produção do leite com polpa, foi similar à obtida com milho (Solomon et al., 2000; Gheman et al. 2006).

TABELA 2. Produção de leite em experimentos onde houve substituição de milho por polpa de citros.

Controle	Polpa	Leite kg/dia		*P*[1]	Ref.[2]
Milho/Polpa	Milho/Polpa	Milho	Polpa		
47,4/0% do Concentrado	22,4/25% do Concentrado	7,3	7,7	NS	1
23,7/9,7% da dieta	9,3/23,9% da dieta	36,9	36,4	NS	2
19,5/9,6% da dieta	9,2/20,5% da dieta	31,8	27,9	<0,01	3
38,0/0% da dieta	19,1/19,1% da dieta	34,5	29,9	0,01	4
26,9/0% da dieta	13,4/13,4% da dieta	35,8	34,2	0,02	4 [3]
20,9/3,8% da dieta	3,8/20,7% da dieta	41,0	38,0	<0,05	5
61,4/0% do Concentrado	26,3/26,3% do Concentrado	30,6	30,0	NS	6
10,1/24,0% da dieta	0/33,1% da dieta	28,4	27,5	0,04	7

[1] *P* = Valor de probabilidade estatística; NS = Não significativo
[2] Fonte: 1 = Tavares et al. (2005); 2 = Solomon et al. (2000); 3 = Leiva et al. (2000); 4 = Broderick et al. (2002); 5 = Larson (2003); 6 = Gheman et al. (2006); 7 = Salvador et al. (2008b)
[3] Inclusão de soja extrusada

No experimento de Gheman et al. (2006), com vacas pastejando azevém e suplementadas com concentrado contendo 61,4% de milho ou 26,3% de milho

e 26,3% polpa, a produção de leite foi em torno de 30 kg d^{-1} e o consumo estimado de matéria seca foi similar entre tratamentos. A substituição de milho por polpa de citros deprimiu, em cerca de 1 kg d^{-1} o consumo de matéria seca no trabalho de Solomon et al. (2000). Apesar da queda no consumo, a produção de leite foi similar entre os tratamentos.

Em dois trabalhos, a suplementação de dietas à base de polpa cítrica com fontes de proteína não degradável no rúmen, induziu resposta positiva sobre a produção de leite (Broderick et al., 2002; Larson, 2003). A inclusão de soja processada diminuiu a diferença de produção de leite da dieta com polpa, em relação à dieta com milho úmido ensilado, de 4,6 kg para 1,6 kg d^{-1}. Esta resposta sugere que a substituição de milho por polpa pode ter limitado o fluxo de proteína digestível para o intestino delgado.

Larson (2003) avaliou três fontes de carboidratos não fibrosos em arranjo fatorial 3x2 de tratamentos com soja processada ou farelo de soja. Trinta e oito vacas holandesas foram alocadas nos tratamentos em delineamento parcialmente balanceado e incompleto do tipo quadrado latino. As fontes de carboidratos foram: amido (milho moído), FSDN mais açúcares (polpa de citros) ou açúcares (sacarose + polpa de citros + melaço). Houve tendência de maior consumo de matéria seca nas dietas com amido e menor consumo nas dietas com polpa de citros. A produção do leite, na dieta com polpa, foi inferior à dieta com milho quando a fonte protéica foi farelo de soja. Quando soja processada substituiu o farelo de soja, não foi detectada diferença em produção de leite entre as dietas com milho e polpa. Nesse caso a eficiência alimentar medida pela produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e dividida pelo consumo de matéria seca foi maior nas dietas com polpa. A menor produção de proteína microbiana, a partir de pectina ou sacarose, em relação ao amido (Hall & Herejk, 2001), pode justificar a necessidade de maior inclusão de proteina não degradável no rúmen nas dietas com polpa de citros.

A manutenção de 10% da matéria seca dietética de milho maduro moído fino aumentou o consumo de matéria seca e a produção de leite em relação a uma dieta com 33,1% de polpa de citros formulada por substituição total do milho pela polpa (Salvador et al., 2008a e b). Nesse experimento, a queda no consumo diário de matéria orgânica digestível na dieta com maior inclusão de polpa foi uma explicação plausível para a menor produção de leite nesse tratamento.

2.1.4.2 Gordura do leite

O teor de gordura no leite não tem sido alterado de forma consistente quando se substitui o milho por polpa de citros. A produção diária de gordura, nas dietas com milho, tende a ser igual ou superior às dietas com polpa, já que aparentemente, acompanha a resposta positiva em produção de leite normalmente induzida por dietas com mais amido de milho. Dentre os sete trabalhos avaliados (Leiva et al., 2000; Solomon et al., 2000; Broderick et al., 2002; Larson, 2003; Tavares et al., 2005; Gheman et al. 2006; Salvador et al., 2008b), apenas um detectou diferença no teor de gordura do leite (Leiva et al., 2000). Nesse trabalho, o teor de gordura foi superior na dieta com maior inclusão de polpa de citros, 3,45 *vs* 3,27%. Não obstante, a produção de gordura foi superior na dieta com milho, pois o menor teor de gordura foi compensado pela maior produção diária de leite nesse tratamento.

O teor de gordura mais baixo dentre os trabalhos revisados foi de 3,20% para o tratamento com maior inclusão de milho no experimento de pastejo de Gheman et al (2006), valor que não foi estatisticamente diferente do tratamento com inclusão de polpa de citros, 3,26%. O teor de gordura mais alto foi detectado no trabalho de Salvador et al., (2008b), 3,65% nas dietas com milho e 3,64% nas com polpa. A falta de resposta em teor de gordura à substituição de

milho por polpa pode ter decorrido do fato das dietas experimentais não terem sido formuladas com baixo teor dietético de FDN oriundo de forrageiras. A avaliação da efetividade da fibra de um alimento, pela capacidade de indução de resposta em teor de gordura no leite, é mais eficientemente realizada em dietas deficientes em fibra efetiva (Armentano & Pereira, 1997).

Em situações alimentares com baixa proporção de forragem na dieta, é possível que, maiores diferenças possam ser observadas. Van Horn et al. (1975) alimentaram vacas com dietas contendo 25% de bagaço de cana peletizado oferecido como forrageira única. O teor de gordura nesse experimento foi 4,22% no tratamento com 43% de polpa e caiu para 3,54%, quando o milho substituiu a polpa, resultando em um teor dietético de polpa de 8%.

Dias Júnior et al. (2007) avaliaram a substituição parcial de silagem de milho por polpa de citros. As dietas continham o mesmo teor dietético de milho maduro moído fino, farelo de soja e soja integral. O teor dietético de FDN oriundo da silagem foi reduzido de 26,6% para 19,3% da matéria seca, pela redução do teor dietético da forragem de 46,9 para 34,2% e o simultâneo aumento no teor de polpa de 16,2 para 29,4%. A substituição da silagem por polpa não afetou as produções e os teores de proteína e gordura do leite, mesmo induzindo redução na atividade mastigatória, evidenciando a capacidade da polpa cítrica de manter o teor de gordura do leite. A relação entre a secreção diária de energia no leite e o consumo de matéria orgânica digestível foi mais alta na dieta de baixa forragem, sugerindo que a substituição de forragem por polpa cítrica aumentou a conversão da energia digerida em energia no leite.

Solomon et al. (2000) avaliaram o perfil de ácidos graxos na gordura do leite de vacas recebendo dietas onde polpa cítrica substituiu milho. O efeito do tipo de carboidrato dietético sobre o perfil de ácidos graxos da gordura não foi acentuado. Assumindo que alimentos capazes de deprimir o teor de gordura no leite são capazes de reduzir a proporção de ácidos graxos de cadeia curta e

aumentar a proporção de ácidos linoléicos conjugados na gordura secretada pela glândula mamária (Gaynor et al., 1994), parece que a substituição de milho por polpa não é um caminho efetivo para aumentar a secreção mamária de gordura.

2.1.4.3 Proteína do leite

Alterações dietéticas podem fazer efeito sobre o teor e a produção de proteína no leite de vacas leiteiras. A suplementação energética com potencial fermentativo no rúmen pode gerar maior resposta sobre a secreção mamária de proteína do que mudanças no balanceamento protéico da dieta. Mudanças no perfil dos carboidratos dietéticos afetam a síntese de proteína microbiana no rúmen (Hall & Herejk, 2001), capaz de determinar o fluxo de aminoácidos metabolizáveis no ruminante (National Research Council (NRC, 2001), bem como a perda ruminal de nitrogênio na forma de amônia, determinante do conteúdo de nitrogênio não protéico da proteína do leite (Histrov & Ropp, 2003). A resposta mais comum à substituição de milho por polpa de citros na dieta de vacas leiteiras tem sido a redução na produção e/ou no teor de proteína do leite (TABELA 3).

TABELA 3. Produção e teor de proteína no leite em dietas onde houve substituição de milho (Milho) por polpa de citros (Polpa).

Teor de proteína (%)	Produção de proteína (g d^{-1})	Referência
Milho – Polpa	Milho – Polpa	
3,45 (NS)	255 (NS)	Tavares et al. (2005)
3,00 – 2,93**	1.050 – 1.010**	Solomon et al. (2000)
3,10 (NS)	960 – 880**	Leiva et al. (2000)
3,08 – 2,86**	1.060 - 960**	Broderick et al. (2002)
2,80 – 2,67 **	1.130 – 1.010*	Larson (2003)
2,81- 2,70*	815 (NS)	Gheman et al. (2006)
3,22 - 3,17 *	897- 855 **	Salvador et al. (2008b)

*(P<0,05). ** (P<0,01). NS – Não significativo.

O efeito da natureza dos carboidratos dietéticos sobre o metabolismo protéico de ruminantes será mais discutido a seguir.

2.1.5 Eficiência da síntese de proteína microbiana a partir de pectina, sacarose ou amido

Diferenças no perfil de carboidratos, que no milho são representados majoritariamente por amido e na polpa de citros por sacarose, pectina e fibra, podem explicar as diferenças na fração protéica do leite quando ocorre substituição dietética de milho por polpa. O amido é mais eficiente em estimular a síntese microbiana no rúmen do que a pectina, a sacarose ou a fibra (Marounek & Dusková 1999; Dusková & Marounek, 2001; Hall & Herejk, 2001; Sannes et al., 2002).

Hall & Herejk (2001) mensuraram a sintese de proteina microbiana *in vitro* por precipitação da proteína bruta com ácido tricloroacético. O crescimento microbiano foi induzido com amido, sacarose e pectina combinados com FDN isolado de *Cynodon dactylon*, na proporção 40/60, além de FDN puro da gramínea como substratos. Os substratos foram incubados por 24 horas em culturas mistas de microorganismos do rúmen. A produção total de proteína microbiana foi maior para o amido do que para a pectina e a sacarose, esses produziram 88 e 86% da proteína microbiana produzida com amido, respectivamente. Entretanto, a produção microbiana em quatro e oito horas de incubação foi maior para pectina e sacarose do que para amido, e foi similar para os três substratos com doze horas de incubação. Similarmente, as produções de proteína microbiana na fermentação de pectina, sacarose ou amido foram similares na décima hora de fermentação quando o pH do meio foi mantido em 6,7 (Strobel & Russel, 1986). Como o tempo de retenção da digesta no rúmen de vacas de alta produção é ao redor de 20 horas (o inverso de um kp de 0,05 h^{-1}), a

avaliação da síntese microbiana em incubações por um período em torno de 24 horas parece ser coerente para evidenciar o maior potencial de síntese protéica do amido.

Hall & Herejk (2001) argumentam que o número de carbonos disponíveis para transformação em produtos, relativamente ao peso molecular, é maior no amido do que na pectina. A glicose no amido tem 180 gramas por mol e tem seis carbonos utilizáveis. Já a pectina utilizada no trabalho, era composta por 36% de ácido galacturônico (194 gramas por mol, seis carbonos) e 64% de ácido galacturônico metilado (208 gramas por mol, sete carbonos), compondo uma média de 6,64 carbonos e 203 gramas por mol. No entanto, o carbono do grupamento metil da pectina não seria aproveitado devido à hidrólise por microorganismos e produção de metanol. Logo, o número de carbonos por unidade de peso molecular seria maior no amido, o que poderia explicar as diferenças de sintese protéica.

Hall (2004) propõe que os carboidratos diferem do ponto de vista do balanço de massa. Considerando que os microorganismos dependem da quantidade de carbonos disponíveis ou de monossacarídeos para gerar produtos, a glicose, a sacarose e o amido disponibilizariam, por unidade de massa, quantidades diferentes de monômeros. Na verdade, quando um número determinado de moléculas de glicose se combina para formar o amido, o mesmo número de moléculas de água é liberado. Considerando que o peso molecular da água é 18, o que representa em torno de 10% do peso molecular da glicose (180), uma hidrólise do amido vai representar em torno de 10% a mais em peso de glicose, pois uma molécula de água será acrescentada ao monossacarídeo. No caso de um dissacarídeo, como ocorrerá a perda de apenas uma molécula de água para as duas moléculas, a diferença seria em torno de 5%. Partindo dessa premissa, 1 kg de glicose representa 1 kg de monossacarídeos, já 1 kg de um dissacarídeo (sacarose por exemplo) representaria 1,05 kg e 1 kg de amido

representaria 1,11 kg de monossacarídeos. Se a base de utilização dos carboidratos nos microrganismos é o monossacarídeo, haveria diferenças potenciais em substrato podendo justificar parte das diferenças na eficiência microbiana. Além disso, a degradação de diferentes substratos poderá ocorrer por vias metabólicas distintas que poderão apresentar diferenças em rendimento por unidade fermentada.

A molécula de pectina é hidrolisada por pectinesterases e pectinoglicosidases (Dehority, 1969). *Prevotella ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Lachnospira multiparous* são as principais bactérias pectinolíticas no rúmen. Culturas purificadas dessas bactérias foram capazes de fermentar *in vitro* 80% da pectina cítrica contida no meio (Gradel & Dehority, 1972). A fermentação da pectina por *Prevotella ruminicola* e *Butyrivibrio fibrisolvens* foi avaliada por Marounek & Dusková (1999). As enzimas detectadas nas culturas com pectina foram típicas da via glicolítica de Entner-Doudoroff. Essa via produz menos ATP por mol de monossacarídeo fermentado do que a via glicolítica clássica de Embden-Meyerhoff. O menor ganho de energia por unidade de ácido galacturônico comparativamente à glicose pode explicar a menor síntese de proteína microbiana quando pectina substitui amido. Resultados semelhantes foram relatados quando se testou a utilização de pectina ou glicose por *Lachnospira multiparous* (Dusková & Marounek, 2001). O crescimento microbiano por unidade de carbono utilizado foi superior quando o substrato foi glicose em relação à pectina.

Considerando que a sacarose é o principal carboidrato de baixo peso molecular na polpa de citros, e que estes representam cerca de 25% da matéria seca do alimento (Hall et al., 1999), diferenças na fermentação da sacarose e do amido devem ser esperadas quando se compara polpa cítrica com milho. A maior capacidade do amido, relativamente à sacarose, de induzir síntese microbiana *in vitro* (Hall & Herejk, 2001), também foi observada em vacas

leiteiras quando parte do milho dietético foi substituído por sacarose (Sannes et al., 2002). Nesse trabalho, dezesseis vacas Holandesas receberam quatro tratamentos formados pela combinação de dois fatores: 20% de milho ou 13,5% de milho mais 3,2% de sacarose em arranjo fatorial 2x2 com 17,0% ou 18,5% de proteína bruta na dieta. A produção diária de proteína microbiana foi: 2091 gramas nos tratamentos contendo apenas milho e 1830 gramas nos tratamentos com sacarose. As produções diárias de leite, proteína e gordura foram maiores, nas dietas sem sacarose, não sendo detectada diferença no teor de sólidos do leite. Como o consumo de matéria seca foi similar entre tratamentos, a resposta negativa em desempenho à substituição de amido por sacarose pode ter decorrido de diferenças na eficiência de síntese de proteína metabolizável de origem microbiana.

2.1.6 Perfil de fermentação, insulina e proteína no leite

Dietas com alto teor de concentrados aumentam o fluxo de propionato no rúmen (Bauman et al., 1971). Em ruminantes, o propionato é o substrato primário para gliconeogênese. O propionato tem efeito sobre o sistema endócrino, como precursor de glicose ou também por efeito direto sobre a secreção hormonal. A infusão de propionato de sódio em vacas leiteiras teve efeito imediato sobre a secreção pancreática de insulina (Peters & Elliot, 1984). Bradford et al. (2006) realizaram infusões em vacas leiteiras de doses crescentes de propionato de sódio, havendo efeito linear da dose infundida sobre a concentração plasmática de insulina.

A insulina pode ter efeito sobre a secreção de proteína do leite (Griinari et al., 1997; Mackle et al. 1999; Jenkins & Mcguire, 2006). Griinari et al. (1997) avaliaram os efeitos de caseinato de sódio, de insulina e da combinação de ambos sobre a composição do leite de cinco vacas. A infusão de caseína foi

realizada diretamente no abomaso e a de insulina foi feita por catéteres fixados na veia jugular. Visando manter euglicemia nos animais que receberam insulina, foi realizada infusão concomitante de glicose. A infusão de caseína não alterou as concentrações plasmáticas de glicose e insulina, mas aumentou a produção diária de leite (29,5 *vs* 26,6 kg). A infusão de caseína também aumentou a produção diária de proteína de 825 para 965 g e o teor de proteína do leite de 3,13 para 3,29%. A insulina não afetou a produção de leite, mas aumentou a secreção diária de proteína de 850 para 940 g e o teor de proteína de 3,13 para 3,29%. Foi detectada uma interação entre as infusões de caseína e insulina na resposta em teor e produção de proteína do leite. Com a infusão de insulina, a resposta em teor de proteína do leite à infusão com caseína foi de 3,15 para 3,44%.

Os efeitos positivos da insulina sobre a secreção de proteína do leite também foram observados por Mackle et al., (1999). O delineamento experimental foi similar ao experimento de Griinari et al. (1997). No entanto, juntamente com a infusão de caseína, foram adicionados aminoácidos de cadeia ramificada. A infusão de insulina aumentou a produção de proteína em cerca de 15% e a combinação de insulina com caseína em cerca de 25%.

Dietas com diferentes fontes de carboidratos afetaram as concentrações plasmáticas de insulina de vacas leiteiras (Lees et al., 1990). A substituição parcial de milho e cevada por polpa de beterraba reduziram a concentração plasmática de insulina, provavelmente em resposta ao menor fluxo de propionato do rúmen nesta dieta. Larson (2003) também induziu variação na concentração plasmática de insulina por substituição de milho por polpa cítrica ou polpa cítrica acrescida de sacarose e melaço. A menor concentração plasmática de insulina e glicose foi observada na dieta contendo apenas polpa cítrica, que também induziu uma menor produção de proteína no leite. Considerando que a eficiência de síntese microbiana com sacarose é similar à

pectina (Hall & Herejk, 2001), a maior produção de proteína no leite na dieta com açúcares pode estar relacionada à maior concentração de glicose plasmática, capaz de poupar aminoácidos gliconeogênicos (Danfaer, 1994) e aumentar a disponibilidade dos mesmos para a glândula mamária. A maior concentração de insulina no plasma também pode ter atuado positivamente sobre a secreção de proteína pela glândula mamária.

2.2 Degradação da matriz protéica e ensilagem de milho úmido

A digestibilidade da silagem de grãos com alta umidade é semelhante à de grãos de milho processados termicamente na indústria (Galyean et al., 1981), sendo que a silagem de grão úmido é realizável na fazenda. Experimentos com vacas em lactação também evidenciaram que a utilização de milho na forma de silagem de grão úmido aumenta a digestibilidade do amido no rúmen e no trato digestivo total (Knowlton et al., 1996; Wilkerson et al., 1997 Knowlton et al., 1998; Oba & Allen, 2003). McAllister et al. (1990), utilizando microscopia eletrônica, observaram que a matriz protéica do milho limitava o acesso de bactérias ao grânulo de amido, portanto, com potencial efeito negativo sobre a digestibilidade. A pressão, umidade, proteólise e fermentação durante e após o processo de ensilagem, podem romper a matriz protéica e expor os grânulos de amido (Baron et al. 1986; Kotarski et al., 1992), sendo uma forma de aumentar o acesso microbiano ao material ensilado.

McAllister et al. (1993) avaliaram o papel da matriz protéica e do tamanho de partículas sobre a digestão do milho e da cevada por microorganismos ruminais. Os grãos receberam tratamento com protease e foram posteriormente incubados em fluído ruminal *in vitro*. O tratamento com protease aumentou a degradabilidade ruminal do amido do milho. Comparando o endosperma do milho com o endosperma da cevada, observou-se que mesmo

no grão moído, os grânulos de amido permaneciam envolvidos pela matriz protéica. Enquanto, a matriz protéica no milho foi resistente à colonização, a matriz da cevada foi rapidamente degradada pelos microorganismos ruminais. A redução do tamanho de partículas aumentou a degradação do amido da cevada e do milho.

Pereira et al. (2004) observaram que o efeito da textura sobre a degradabilidade ruminal da matéria seca de grãos de milho se acentua com o avançar do estádio de maturação da planta. No estádio de linha negra, ponto da colheita de grãos para ensilagem com 30 a 40% de umidade, o efeito da textura sobre a digestibilidade é marcado. Entretanto, a colheita do grão de milho antes do estádio de maturação de grão seco e a degradação da matriz protéica circundando os grânulos de amido do endosperma por enzimas microbianas durante a ensilagem podem aumentar a disponibilidade ruminal do amido (Baron et al., 1986; Philippeau et al., 1998), contrapondo o efeito negativo da dureza excessiva sobre a digestibilidade ruminal.

2.3 Aminoácidos em nutrição de gado leiteiro

2.3.1 Introdução

A exigência protéica de ruminantes se baseia na demanda por proteína metabolizável, que é definida como a proteína verdadeira que desaparece do lúmen do intestino delgado (NRC, 2001). A proteína metabolizável que chega ao intestino é composta por: Proteína microbiana sintetizada no rúmen, proteína dietética não degradada no rúmen e proteína endógena. Entretanto, a exigência nutricional para síntese protéica pelos tecidos animais é por uma proporção e quantidade de aminoácidos. Os aminoácidos essenciais são aqueles que o

organismo animal não pode sintetizar, e devem ser fornecidos pela dieta ou absorvidos após síntese pelos microorganismos ruminais. Os aminoácidos essenciais considerados na formulação de dietas para ruminantes são: Arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina.

A relação entre os aminoácidos essenciais disponíveis para o animal é importante para a eficiência da síntese protéica pelos tecidos (Lapierre & Lobley, 2001). O conceito de proteína ideal postula que para desempenho ótimo um equilíbrio entre os aminoácidos é necessário para cada função metabólica. Aminoácidos em excesso aos necessários para a síntese protéica, ditada pelo suprimento diário do aminoácido mais limitante para a síntese das cadeias com seqüência pré-definida de aminoácidos em determinada proteína, serão desaminados e oxidados. A proteína dietética ideal tem proporção de aminoácidos o mais similar possível relativamente à proporção encontrada na proteína sendo sintetizada pelos tecidos.

Weekes et al. (2006) induziram desbalanço de aminoácidos em vacas leiteiras por infusão abomasal. Seis vacas receberam seis tipos de infusão em delineamento do tipo Quadrado Latino: Controle negativo com soro fisiológico, controle positivo com todos os aminoácidos, e controle positivo sem lisina, metionina, histidina ou aminoácidos de cadeia ramificada. A produção média de leite foi em torno de 21,5 kg. Relativamente ao controle negativo a infusão com a mistura completa de aminoácidos aumentou a produção e o teor de proteína no leite. Os tratamentos sem lisina, metionina e histidina diminuíram o teor e a produção de proteína no leite em relação às infusões completas e sem os aminoácidos de cadeia ramificada. Estes dados sugerem que lisina, metionina e histidina são aminoácidos limitantes da síntese protéica em vacas leiteiras.

Complicantes inerentes à compreensão da nutrição protéica de ruminantes são, a alta participação da proteína microbiana sintetizada no rúmen

para o aporte de aminoácidos para o animal e a modificação dos aminoácidos dietéticos pela fermentação ruminal, dentre outros pontos que requerem evolução (Lapierre et al., 2006). A suplementação dietética de determinado aminoácido para ruminantes pressupõe a necessidade de alguma tecnologia capaz de reduzir a degradação dos mesmos por enzimas microbianas no rúmen. Três formas de proteção têm sido utilizadas. A primeira alternativa seria a cobertura da superfície do aminoácido com polímeros de ácidos graxos sensíveis ao pH, nesse caso dependente da digestão enzimática e diferenças de pH dos pré-estomagos para o abomaso (Schwab, 2003). Uma segunda opção seria a cobertura ou combinação do aminoácido com uma matriz de carboidratos e/ou ácidos graxos saturados ou minerais, neste último caso formando quelatos (Loerch & Oke, 1989). Outras opções seriam moléculas derivadas de metionina, como derivativos de metionina ou a metionina hidroxi análoga (Schwab, 2003).

2.3.2 Aminoácidos limitantes para produção de leite

Parece haver consenso na literatura que nas situações alimentares mais comuns em vacas leiteiras os aminoácidos mais limitantes são lisina e metionina (NRC, 2001). As primeiras evidências do potencial de resposta animal, à atuação sobre o perfil de aminoácidos de uma dieta, ocorreram em experimentos onde a infusão de caseína induziu aumentos significativos na produção de leite e/ou na produção e teor de proteína do leite (Broderick et al., 1970; Clark et al., 1973).

Schwab et al. (1976) demonstraram ser a lisina e a metionina os aminoácidos mais limitantes da secreção de proteína no leite de vacas leiteiras. Vacas no início de lactação, com produção diária em torno de 30 kg, foram submetidas a infusões abomasais com diferentes combinações de aminoácidos. Os tratamentos controle foram os 10 aminoácidos essenciais infundidos na proporção em que estão presentes na proteína do leite ou caseinato de sódio. As

dietas foram formuladas para conter 11% de PB, teoricamente capaz de atender 75% da exigência protéica e 100% da exigência energética dos animais, segundo recomendações do NRC (1971). As forragens foram silagem de milho em três experimentos e feno misto de gramínea e alfafa em outros dois. A infusão simultânea de lisina e metionina, relativamente aos tratamentos controle, aumentou a produção de proteína no leite em 40% e o teor de proteína em 68%. O aumento induzido na produção de leite foi de apenas 7%. Não se observou resposta em produção e teor de proteína no leite quando metionina foi infundida sem infusão concomitante de lisina, enquanto a infusão isolada de lisina induziu 16% de resposta positiva. O fato da infusão de lisina e metionina ter induzido resposta inferior aos tratamentos controle sugere que outros aminoácidos poderiam ser limitantes da produção de leite.

Em dietas onde o milho e seus subprodutos são a fonte majoritária de proteína não degradável no rúmen (PNDR), lisina parece ser o aminoácido mais limitante da produção de leite. Em contrapartida, metionina é o aminoácido mais limitante quando soja e farelos de origem animal são utilizados como fonte de PNDR (NRC, 2001). Em dietas normalmente utilizadas no sudeste brasileiro, a suplementação com metionina pode surtir efeito já que o farelo de soja é uma fonte protéica comumente utilizada nesta região.

Entretanto, em dietas baseadas em silagem de gramínea, o aminoácido mais limitante pode ser histidina (Vanhatalo et al., 1999; Korhonen et al., 2000). Vanhatalo et al. (1999) não conseguiram induzir aumento em produção de leite e de proteína com a infusão de metionina e lisina, sendo observada resposta positiva apenas à infusão de histidina. Os animais receberam dieta formulada com silagem de gramínea e isenta de milho e farelo de soja, evidenciando a possibilidade de interação entre a suplementação de aminoácidos e a dieta fornecida.

2.3.3 Predição do aporte e da exigência de aminoácidos essenciais em vacas leiteiras

A exigência nutricional de vacas leiteiras por aminoácidos absorvidos (definidos como metabolizáveis pelo sistema do NRC, 2001) tem sido estimada pelo método fatorial clássico (O'Connor et al., 1993) e pelo método da proteína ideal (Rulquin et al., 1993; NRC, 2001). O método fatorial estima a exigência por aminoácidos absorvidos com base na composição em aminoácidos dos produtos (mantença, gestação, crescimento e produção de leite) e na eficiência de utilização dos mesmos. A predição da composição em aminoácidos do leite e de tecidos é relativamente fácil, entretanto, a predição da eficiência de utilização dos aminoácidos absorvidos é difícil e variável. A exigência nutricional líquida de aminoácidos tem sido calculada por este método em modelos nutricionais (O'Connor et al., 1993).

O método da proteína ideal é baseado na resposta em proteína no leite à lisina e metionina como proporção da proteína metabolizável. A estimativa da resposta pode ser feita de forma direta (Schwab et al. 1992; Pisulewski et al., 1996), fornecendo quantidades definidas do aminoácido por infusão e medindo a resposta em desempenho animal, para estabelecer uma quantidade ideal do aminoácido capaz de induzir desempenho ótimo. O método de dose resposta indireto (Rulquin et al., 1993; NRC, 2001) é baseado na análise de dados publicados, nos quais, a suplementação com lisina ou metionina foi comparada a um tratamento controle. A concentração ideal dos aminoácidos é obtida por observação da plotagem dos dados.

No intuito de definir uma concentração ideal de lisina e metionina digestível no intestino capaz de maximizar a secreção de proteína no leite, Rulquin et al. (1993) analisaram 57 experimentos onde foram descritas 164 dietas. Os dados utilizados eram de vacas Holandesas produzindo em média 30 kg de leite e consumindo 19,4 kg de matéria seca. As concentrações de lisina e

metionina foram preditas como porcentagem da Proteína Digestível no Intestino (PDI) (INRA, 1989). Os valores estimados variaram de 5,0 a 10,6% da PDI para lisina e de 1,7 a 2,7% da PDI para metionina. A resposta em produção de leite e gordura à variação no teor dos aminoácidos na PDI foi pequena e inconsistente, portanto, estas variáveis não foram utilizadas para modelar a resposta aos nutrientes. Em contrapartida, a produção diária de proteina do leite teve um relacionamento curvilinear com o teor de lisina e metionina na PDI. Como as respostas foram exponenciais, a resposta ótima foi assumida como o valor assimptótico (platô). O teor ótimo dos aminoácidos foi arbitrariamente definido como aquele capaz de induzir uma resposta em produção de proteina ligeiramente abaixo do platô. A resposta ótima foi obtida com 7,3% de lisina na PDI e 2,5% de metionina. Com base nestes valores, foi definida a relação ideal entre lisina e metionina na PDI, algo ao redor de 2,92.

As exigências de lisina e metionina na proteina metabolizável, equivalente ao PDI francês, foram estimadas pelo NRC (2001) pelo sistema de dose resposta indireto, similarmente ao proposto por Rulquin et al. (1993). Nas regressões do NRC (2001), a estimativa do teor ótimo de lisina foi gerada apenas com dados onde o teor de metionina representava pelo menos 1,95% da proteína metabolizável. Para estimar teor ótimo de metionina, o valor mínimo de lisina na proteina metabolizável foi de 6,5%. Na simulação do NRC (2001), a máxima eficiência de utilização da proteína metabolizável foi obtida com 7,2% de lisina e 2,4% de metionina na proteína metabolizável, similar aos valores encontrados por Rulquin et al. (1993).

Entretanto, a resposta em produção de proteína no leite parece ser pequena para valores de lisina acima de 6,9% da proteína metabolizável e metionina acima de 2,3%. Esses valores são considerados meta quando se utiliza o modelo do NRC (2001). Em vacas de alta produção consumindo dietas baseadas em milho, tem sido sugerida a meta prática de 6,6% e 2,2% da proteina

metabolizável para lisina e metionina. Com a utilização do CPM-Dairy, baseado no sistema de Cornell (O'Connor et al., 1993), as recomendações práticas seriam de 6,5 a 6,6% de lisina e 2,1 a 2,2% de metionina na proteína metabolizável (Chalupa & Sniffen, 2006). A relação entre lisina e metionina fica ao redor de 3 (Rulquin & Verité, 1993, Schwab, 1996). Lisina e metionina estão presentes nos tecidos corporais, bactérias do rúmen e no leite numa relação aproximada de 3 para 1 (NRC, 2001). Schwab et al. (2004) sugerem que esta relação deve estar ao redor de 3 quando se utiliza o modelo do NRC (2001) e de 3,1 quando a estimativa é baseada no modelo de Cornell.

As predições do NRC (2001) e de Rulquin et al. (1993) são similares à predição dos modelos que estimaram lisina e metionina como porcentagem do total de aminoácidos essenciais (Doepel et al., 2004). Estas estimativas foram baseadas em modelos gerados a partir de um banco de dados da literatura contendo 40 trabalhos, descrevendo 59 experimentos e 217 tratamentos. Os tratamentos representavam apenas infusões de aminoácidos livres ou caseína e se testou a resposta em produção de proteína do leite em relação ao suprimento de aminoácidos.

A exigência nutricional de outros aminoácidos essenciais tem sido relatada na literatura (Rulquin et al., 2001). No entanto, essas exigências foram baseadas em poucos experimentos utilizando infusões seqüenciais onde se mediu a resposta em desempenho, utilizando a metodologia de dose-resposta direta (Rulquin & Pisulewski, 2000a; Rulquin & Pisulewski, 2000b, Rulquin & Pisulewski, 2000c). Estes trabalhos avaliaram separadamente as exigências de histidina, fenilalanina e leucina como porcentagem da PDI. O ideal de histidina foi definido como sendo entre 3,4 e 5,6% da PDI, de fenilalanina entre 4,6 e 5,8% da PDI e o de leucina entre 8,87 e 11,1% da PDI. Dessas estimativas, apenas a exigência de histidina diferiu das estimativas geradas pelos modelos matemáticos de Doepel et al. (2004), em torno de 2,4% da PDI. Esse valor para

histidina é mais próximo das recomendações de Rulquin et al. (2001), entre 2,5 e 3,2% da PDI. Baseados em dados preliminares têm sido sugeridas concentrações mínimas de outros aminoácidos: 5,3% para valina, 5,0% para isoleucina, 4,0% para treonina e 4,3% para arginina (Rulquin et al., 2001).

2.3.4 Metionina

A metionina é um aminoácido essencial, hidrofóbico, com funções únicas e importantes no metabolismo. Representa um dos aminoácidos sulfurados e tem função tanto na síntese protéica quanto no metabolismo. A principal função da metionina é mediada por sua conversão em S-adenosilmetionina (adoMet), que é um cofator responsável pela transferência de grupos metila (CH_3) entre moléculas, passo importante em várias reações biossintéticas. A adoMet é a metionina que foi ativada por uma molécula de ATP e é doadora de grupamentos metila em praticamente todas as reações biológicas conhecidas (Stead et al., 2006; Brosnan et al., 2007). Dentre os quatro aminoácidos sulfurados (metionina, cisteína, homocisteína e taurina), a metionina é o único essencial. Dentre os compostos mais importantes em que participa e tem atuações sobre a síntese, estão: fosfatidilcolina, carnitina, creatina e poliaminas (Bequette et al., 1998). Normalmente, a metionina é o aminoácido inicial na sintese protéica de eucariotes, a N-formil-metionina tem a mesma função em procariotes. Uma questão a ser considerada é o fato da maioria dos resíduos de metionina ser removido na seqüência da síntese protéica, o que pode ser indicativo de que sua função principal está ligada ao início do processo de transcrição (Brosnan & Brosnan, 2006).

A metionina é convertida em adoMet por uma reação dependente de ATP, em que todos os três fosfatos são removidos da molécula de ATP (Stead et.al., 2006). Numa seqüência possível de reações após a desmetilação, pode

gerar S-adenosil homocisteína, que é clivada a homocisteína, que subseqüentemente, pode ser metabolizada através de duas vias. Uma das vias é a de recuperação, envolvendo sua re-síntese em metionina pela enzima metionina sintase na presença de vitamina B12. Além disso, a homocisteína, no fígado e nos rins de algumas espécies, pode ser revertida a metionina pela betaina: homocisteína metiltransferase. Esses dois processos têm efeito de remetilação, e a combinação de transmetilação e remetilação corresponde ao ciclo da metionina, presente na maioria das células (Brosnan & Brosnan, 2006). O outro caminho possível se segue a partir metabolização da homocisteína em cistationina e posteriormente em cisteína após receber o esqueleto de carbono da serina, em um processo que é irreversível. Esse processo de transulfuração parece ser limitado ao fígado, rins, pâncreas e intestino. A homoserina resultante é decomposta em succinil-Coa e então metabolizada em ácido pirúvico.

Além da síntese protéica, um aspecto relevante para bovinos leiteiros seria a inter-relação da metionina com o metabolismo de colina e betaina. Quando a colina é oxidada irreversivelmente a betaína, essa reação supre grupamentos metila para a reciclagem de metionina via homocisteína. Além disso, a metionina, através da adoMet, fornece grupamentos metil para a síntese *de novo* de colina. A colina é precursora de fosfatidilcolina. A fosfatidilcolina é componente essencial na síntese de proteínas de muito baixa densidade (VLDL) e não pode ser substituída por outros fosfolipídios nesse processo (Pinotti et al., 2002). A exportação de triglicerídeos no fígado de ruminantes é dependente de VLDL. Considerando a importância desse processo para vacas leiteiras no periparto, a suplementação de metionina em vacas no início de lactação tem potencial de melhorar o desempenho. A atuação potencial da metionina nesse caso seria via metabolismo hepático e perfil metabólico de vacas periparturientes. A suplementação de metionina aumentou a síntese de VLDL

em bezerros, provavelmente por aumentar a disponibilidade de fosfatidilcolina (Auboiron et al., 1995).

A metionina pode atuar positivamente sobre a síntese *de novo* de ácidos graxos de cadeia curta e média na glândula mamária (Pisulewski et al., 1996). Nesse caso a atuação da metionina na glândula mamária pode estar correlacionada com a síntese de Acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase, enzimas importantes na biossintese de ácidos graxos. Varkikko et al (1999) relataram aumento de gordura no leite com infusões crescentes de metionina. Nesse experimento houve aumento na secreção mamária de ácidos graxos de cadeia curta e média, e de ácidos graxos de cadeia longa. Os autores argumentam que a maior excreção de ácidos graxos de cadeia longa poderia estar associada ao efeito da metionina sobre a sintese de VLDL, com aumento potencial do transporte de triglicerídeos do fígado para os tecidos periféricos, especialmente a glândula mamária.

2.3.4.1 Síntese de creatina e creatinina

A síntese de creatina envolve a participação de três aminoácidos: glicina, arginina e metionina. O primeiro passo ocorre no rim e corresponde à transferência do grupo guanidino da arginina para a glicina, formando guanidoacetato, o qual é transportado pela corrente sanguínea até o fígado. No hepatócito, a molécula de guanidoacetato é metilada numa reação envolvendo a adoMet, formando a creatina. A formação de creatina parece ser o maior aceptor de grupamentos metila da adoMet em humanos (Stead et al., 2006).

A creatina é fosforilada numa reação envolvendo ATP, e é transformada em fosfocreatina, um composto de alta energia importante para o músculo esquelético. Diariamente, parte da fosfocreatina é transformada em creatinina no músculo, numa reação irreversível e não enzimática que envolve desidratação e

perda do fosfato. A creatinina tem peso molecular de 113 daltons, e por ser um composto hidrossolúvel se distribui por todos os tecidos do corpo, sendo filtrada pelos glomérulos renais, sem processo de reabsorção. A quantidade diária de creatinina excretada depende da massa muscular e de eventual consumo de creatinina.

2.3.4.1.1 Creatinina, excreção urinária e nutrição

Em animais, a massa diária de creatinina excretada pela urina é assumida como sendo constante e dependente da massa muscular do indivíduo. Esta hipótese tem sido confirmada em experimentos conduzidos com vacas leiteiras (Valadares et al., 1999; Moorby et al., 2006). Sendo assim, a creatinina tem sido utilizada como marcador de excreção urinária para estimar o fluxo diário de derivados purínicos na urina. O crescimento microbiano no rúmen é positivamente correlacionado ao fluxo urinário de derivados purínicos (Vagnoni et al., 1997). A estimativa do fluxo diário de proteína microbiana do rúmen, pelo uso da relação entre a concentração de derivados purínicos e a concentração de creatinina na urina exige que seja assumida que a excreção diária de creatinina é uma constante no mesmo animal.

Em contrapartida, alguns trabalhos evidenciaram o efeito da dieta sobre a excreção diária e a concentração urinária de creatinina (Vagnoni & Broderick, 1997; Moscardini et al., 1998; Reis et al., 2001; Liu & McMenimam, 2006). A maior inclusão de milho úmido ensilado aumentou a excreção diária de creatinina na urina em 4% (P<0,001) (Vagnoni & Broderick, 1997). Doze vacas holandesas em arranjo fatorial de tratamentos, num delineamento em Quadrado Latino 4x4, receberam dietas com 24 ou 40% de milho úmido ensilado e com 75 ou 50% de feno ou silagem de alfafa. A maior inclusão de milho úmido aumentou o consumo de matéria seca, a produção diária de leite (31,6 *vs* 28,9

kg), e os teores de proteína e lactose no leite, sem afetar o consumo diário de nitrogênio (N). A concentração urinária de creatinina em vacas leiteiras também foi afetada pela suplementação de 10 kg de concentrado baseado em milho seco ou milho úmido ensilado moído grosseiramente em vacas consumindo forragem colhida e oferecida *ad libitum* (Reis et al., 2001).

O aumento da proteína dietética aumentou a excreção diária de creatinina na urina de vacas em lactação (Moscardini et al., 1998). A dieta basal baseada em silagem de milho, milho úmido ensilado e palha, apresentou concentração de proteína bruta em torno de 8% da matéria seca. O teor dietético de proteína e PNDR foram alterados pelo acréscimo de quantidades crescentes de um concentrado peletizado com 63,7% de proteína bruta. O concentrado foi formulado para conter um perfil de aminoácidos semelhante à caseína e foi composto por farinhas de pena e sangue, arenque e trigo; foram adicionadas também à dieta lisina e metionina protegidas da fermentação ruminal (Smartamine ML®, Rhône-Poulenc, Canadá). O tratamento com maior concentração protéica aumentou a excreção diária de creatinina de 3,89 para 4,21 gramas. A alteração do perfil de aminoácidos da dieta também afetou o metabolismo da creatinina em ratos. Dietas deficientes em lisina, metionina ou treonina reduziram a excreção diária de creatinina comparativamente a uma dieta com perfil completo de aminoácidos (Fischer, 1965).

A excreção diária de creatinina também diferiu em ovelhas alimentadas com combinações variadas de alfafa, aveia ou sorgo moído (Liu & McMenimam, 2006). A maior excreção de creatinina ocorreu nas dietas com alta proteína e alta energia, foi intermediária nas dietas com alta proteína e baixa energia ou baixa proteína e alta energia, e foi menor na dieta de baixa proteína e baixa energia. Teoricamente, a maior excreção de creatinina ocorreu nas dietas onde houve sincronismo entre as degradações ruminais de proteína e energia,

potencialmente capazes de induzir aumento na síntese de proteína microbiana e no fluxo de aminoácidos metabolizáveis para o animal.

Assumir que a excreção diária de creatinina é uma constante relativamente à massa muscular pode não ser correto. Estratégias alimentares capazes de aumentar o fluxo de aminoácidos metabolizáveis seja de origem dietética ou microbiana, têm mostrado ser capazes de alterar a excreção diária de creatinina pela urina de ruminantes.

2.3.4.2 Resposta em desempenho à suplementação com metionina

Na revisão de Rulquin & Verité, (1993), sobre exigências de aminoácidos para vacas leiteiras, a suplementação de metionina e lisina apresentou melhores respostas em dietas baseadas em milho ou subprodutos do milho. Além disso, o estado fisiológico do animal também parece determinar a resposta aos aminoácidos. O potencial de resposta em produção de leite e de proteína parece ser maior em vacas em fase inicial da lactação. Em animais no meio da lactação, a resposta mais freqüente parece ser aumento no teor e/ou na produção de proteína do leite. Considerando o potencial de atuação da metionina sobre processos metabólicos, parece que o efeito sobre a produção de leite pode estar relacionado a possíveis efeitos benéficos da suplementação sobre a saúde animal.

Dentre os doze experimentos avaliados (Schwab et al., 1976; Donkin et al., 1989; Pisulewski et al., 1996; Armentano et al., 1997; Rulquin & Delaby, 1997; Wu et al., 1997; Nichols et al., 1998; Varkikko et al., 1999; Leonardi et al., 2003; Nofstger et al., 2005; St-Pierre & Sylvester, 2005; Rulquin et al., 2006), a resposta mais freqüente à suplementação com metionina foi sobre o teor ou a produção de proteína no leite (TABELA 4).

TABELA 4. Resposta à suplementação com metionina resistente à fermentação ruminal ou por infusão endovenosa de metionina em vacas leiteiras. Valores à esquerda se referem à menor suplementação adotada no experimento. Valores únicos implicam que não houve resposta significativa a $P<0,10$

Leite (kg d^{-1})	Proteína (g d^{-1})	Proteína (%)	Referência
23,1	656	2,84	Schwab et al. (1976) [1]
25,8	800/860	3,15/3,25	Donkin et al. (1989)
37,1	1014/1065	2,72/2,88	Pisulewski et al. (1996) [2]
41,5	1191/1219/1233	2,89/2,95/2,99	Armentano et al. (1997)
29,3/28,7	920/930	3,13/3,23	Rulquin & Delaby (1997)
40,9	1130/1210	2,83/2,91	Wu et al. (1997)
35,1	1050/1085	3,01/3,07	Nichols et al. (1998)
25,2	799	3,2	Varkikko et al. (1999) [1]
42,2	1343	3,17/3,25	Leonardi et al. (2003)
38,5	1120/1160	2,91/3,02	Nofstger et al. (2005)
37,4/41,9	1102/1224	2,81/2,97	St-Pierre & Sylvester (2005)
32,2	962/998	3,09/3,17	Rulquin et al. (2006)

[1] Metionina suplementada por infusão abomasal
[2] Metionina suplementada por infusão duodenal

Três experimentos utilizaram infusões endovenosas do aminoácido, enquanto os outros trabalhos utilizaram formas de metionina capazes de reduzir a metabolização ruminal do aminoácido.

Deve ser considerado o teor de lisina metabolizável quando se avalia o potencial de resposta à suplementação com metionina. Schwab et. al. (1976) observaram que quando a infusão endovenosa de metionina não ocorreu simultaneamente à infusão de lisina, a resposta ao aminoácido em produção de leite, teor e produção de proteína no leite foram negativos. Em contrapartida, com a infusão concomitante de lisina houve aumento significativo no teor de proteína do leite. Portanto, uma resposta positiva à suplementação de metionina tende a ocorrer em dietas onde não haja uma possível limitação de outros aminoácidos, especialmente lisina. Dentre os trabalhos revisados, cinco

relataram a estimativa do teor de lisina como porcentagem da proteina metabolizável ou da PDI: 6,9% (Rulquin & Delaby, 1997), 6,5 e 6,3% nas dietas basais de alta e baixa proteína, respectivamente (Leonardi et al., 2003), 6,80% (Nofstger et al., 2005), 6,81% (St-Pierre & Sylvester, 2005), 7,13% (Rulquin et al., 2006). Outros quatro experimentos suplementaram lisina concomitantemente a metionina (Donkin et al. 1989; Pisulewski et al., 1996; Wu et al., 1997; Nichols et al. 1998).

Armentano et al. (1997) avaliaram tanto a suplementação com lisina quanto à suplementação com metionina, obtendo resposta positiva apenas à suplementação com metionina. As dietas foram baseadas em silagem de alfafa, milho maduro grosseiramente moído e soja integral processada. Provavelmente, não houve deficiência de lisina metabolizável neste experimento, estimada a partir da dieta relatada pelos autores como sendo ao redor de 6,3% da proteína metabolizável (NRC, 2001). O consumo foi de 25,8 kg de matéria seca nesse grupo de vacas que produziu em média 41,5 kg de leite.

No experimento onde se detectou resposta positiva em produção de leite (St-Pierre & Sylvester, 2005), o delineamento experimental foi contínuo e as vacas foram iniciadas nos tratamentos 21 a 28 dias após o parto. A possibilidade de efeito da metionina sobre o metabolismo hepático de gordura pode ter determinado a resposta observada nestas vacas recebendo os tratamentos na fase inicial da lactação. No trabalho de Rulquin & Delaby (1997) foi detectado um pequeno decréscimo na produção de leite (-0,7 kg) acompanhado de aumento no teor e na produção de proteina do leite. A suplementação da metionina foi realizada em dietas capazes de suprir 87 ou 100% da demanda energética dos animais. Houve maior queda na produção de leite quando se suplementou metionina com déficit energético, uma questão que não foi elucidada pelo trabalho.

2.3.4.3 Metabolismo e absorção de metionina hidroxi análogo

Análogos da metionina têm sido utilizados em monogástricos desde o início da década de 1950. O suplemento alimentar MHA é uma solução concentrada de metionina hidroxi análogo (88%) em água (12%). Quimicamente, o MHA é o ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutirico, um ácido orgânico, diferindo da metionina por ter um grupamento hidroxila no lugar do grupamento amino no carbono 2 (FIGURA 1). Como a DL-Metionina sintética, o MHA tem um carbono assimétrico, portanto sua composição corresponde a 50% de cada isômero D e L (Dibner, 2003).

A conversão dos hidroxi-ácidos em aminoácidos ocorre em duas etapas. Na primeira etapa ocorre oxidação gerando um intermediário cetônico e na segunda etapa ocorre uma transaminação (FIGURA 1). Na conversão dos isômeros D e L do MHA enzimas diferentes atuam em cada isômero (Dibner & Knight, 1984; Dibner, 2003). Estudos feitos com galinhas mostraram que a 2-hidroxi-oxidase, para oxidação do isômero L, ocorre principalmente em peroxissomos do fígado e rins, enquanto a 2-hidroxi-desidrogenase, envolvida com a oxidação do isômero D, está presente na mitocôndria de todos os tecidos (Dibner & Knight, 1984). O intermediário cetônico do MHA é o mesmo, independentemente se a conversão foi feita a partir de D ou L MHA (Dibner, 2003).

Belasco (1972), utilizando MHA com carbono marcado demonstrou a capacidade de absorção e posterior conversão dessa substância em metionina pelo tecido hepático e renal de bezerros. Além disso, a atividade das duas enzimas necessárias para a conversão de MHA no intermediário cetônico foi detectada nos rins, fígado e no epitélio do omaso e do rúmen de ovinos (McCollum et al., 2000). Este trabalho também evidenciou que a capacidade de conversão de MHA no intermediário cetônico em ovinos é similar à capacidade

de galinhas. A utilização de MHA marcado no carbono 14 em vacas leiteiras demonstrou a incorporação do metionina produzida no leite, urina, fígado e rins (Belasco, 1980). Portanto, uma vez nos tecidos, o MHA é uma forma efetiva de suprimento de metionina para ruminantes.

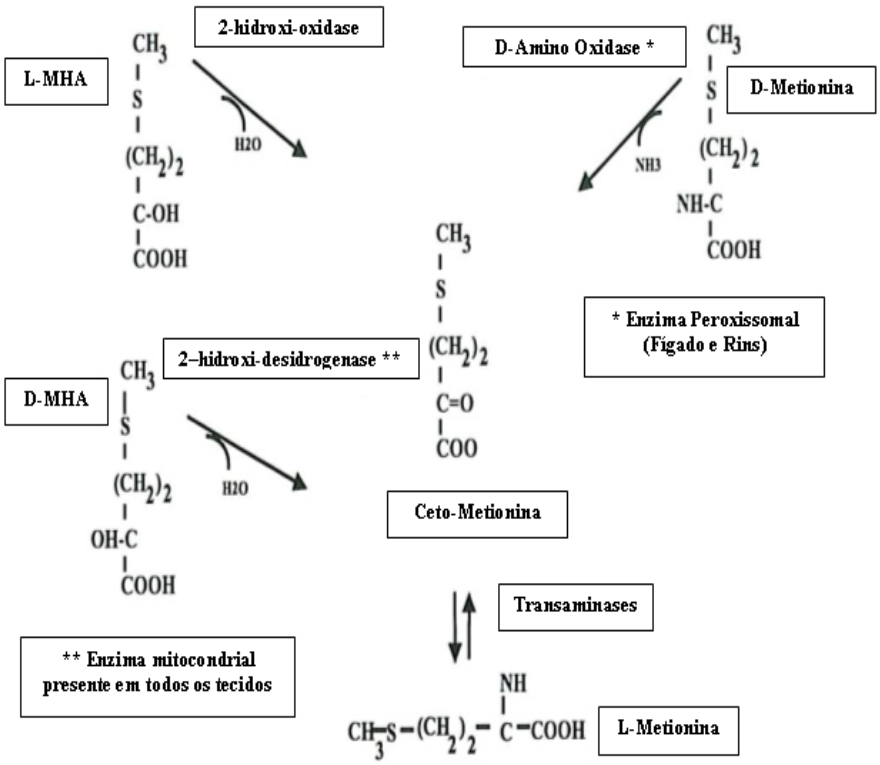

FIGURA 1. Conversão de D-metionina e metionina-hidroxi-análogo (MHA) em L-metionina (Adaptado de Dibner, 2003).

Foi demonstrado que os tecidos de ruminantes têm predileção pelo isômero D-MHA (Lobley et al., 2006). Diferentemente de galinhas, em que o principal local de conversão do MHA em metionina é o fígado, em ruminantes parece não haver predileção por este órgão. A conversão de MHA foi realizada

por vários tecidos periféricos (Wester et al., 2006). Portanto, estes autores argumentam que a ausência de um aumento líquido de metionina no plasma em alguns experimentos com suplementação de MHA pode decorrer do fato dos tecidos periféricos estarem retendo a metionina produzida para síntese protéica. Esse fato geraria uma economia de outras fontes de metionina, podendo ser uma maneira eficaz de alterar o balanço de metionina do animal.

A degradação ruminal da MHA foi estimada *in vivo* por Koenig et al. (1999) como sendo ao redor de 50% do ingerido. Outro experimento utilizando cultivo contínuo *in vitro* estimou valores de escape ruminal de MHA variando de 22 a 43% do incubado (Vásquez-Añon et al., 2001). As doses de MHA utilizadas nesse trabalho foram 0; 0,2; 0,77 e 1,43% da matéria seca da dieta fornecida como substrato aos microorganismos. Num segundo experimento do mesmo trabalho foram utilizadas doses de MHA de 0 e 0,88%. A porção não degradável do MHA não foi alterada pela dosagem utilizada.

A absorção portal líquida de MHA em vacas em lactação foi estimada como sendo 11,2 ± 4,7% (média ± desvio padrão) da dose ingerida (Lapierre et al., 2007). Em outro experimento, apenas 5,3% da dose diária fornecida misturada à dieta, chegou ao omaso de vacas em lactação (Noftsger et al., 2005). Entretanto, a interpretação destes dados deve considerar que ocorre absorção de MHA pelos epitélios do rúmen e omaso (McCollum et al., 2000). Sendo assim, ainda existem discrepâncias nos relatos da literatura lidando com a porcentagem da MHA fornecida que realmente está disponível para o animal. Fatores ligados ao animal e à dieta podem determinar diferenças importantes na passagem da digestão e na absorção do MHA pelos pré-estômagos e duodeno. No produto comercial Alimet®, a absorção passiva do MHA ao longo do trato digestivo tem sido assumida como sendo 40% do consumido e 100% do absorvido estaria disponível para a conversão em L metionina pelos tecidos (Novus International, 2008).

2.3.4.4 Metionina hidroxi análogo e desempenho animal

A utilização do MHA em vacas de leite foi primeiramente descrita no final da década de 1960, como preventivo de cetose (Griel et al., 1968). O produto usado nesses trabalhos era um sal de cálcio da MHA, que não era completamente solúvel em água. A suplementação de 40 ou 80 gramas, entre 21 dias antes do parto até oito semanas de pós-parto, mostrou ter efeito positivo sobre a produção de leite (Griel et al., 1968). A suplementação do sal de MHA nas dosagens de 0; 0,2; 0,4 e 0,8% do concentrado de vacas no periparto teve efeito quadrático sobre as produções de leite e gordura (Polan et al., 1970). A produção máxima de leite foi obtida com 0,2% do concentrado do suplemento, em torno de 25 g d^{-1}. A dieta era constituída de 11 a 12 kg de concentrado por animal e silagem de milho com 0,5% de uréia como forrageira. A queda na produção de leite, na maior suplementação, aparentemente decorreu da queda no consumo, induzido pela baixa palatabilidade do suplemento. A concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados e o conteúdo de triglicerídeos nas lipoproteínas foram reduzidos pela suplementação com MHA, sugerindo o efeito benéfico do produto sobre o metabolismo de gordura pelo fígado.

Huber et al. (1984) também verificaram que a suplementação de 25 g do sal de cálcio de MHA aumentou o teor e a produção de gordura de vacas em início de lactação. Cinqüenta e duas vacas receberam o produto nos primeiros 150 dias de lactação e 48 formaram o controle não suplementado. Apesar da suplementação com sais de MHA ter aumentado a produção de leite e gordura nesses trabalhos que utilizaram vacas em início de lactação (Griel et al., 1968; Polan et al., 1970; Holter et al., 1972), a suplementação durante toda a lactação não induziu resposta positiva (Wallenius & Whitchurch, 1975; Stokes et al., 1981). Nos trabalhos mais recentes, a suplementação de MHA para vacas leiteiras tem gerado efeitos pouco consistentes sobre o desempenho animal

(Noftsger et. al., 2005; St. Pierre & Sylvester, 2005; Johson-VanWieringen et al., 2007).

Trabalhos avaliando a forma esterificada da MHA (MHAi) têm gerado resultados promissores (St. Pierre & Sylvester, 2005; Rulquin et al., 2006). A esterificação da molécula de MHA aparentemente reduz a degradação ruminal desse composto (Robert et al., 2001). St-Pierre & Sylvester (2005) avaliaram a suplementação com MHAi e MHA relativamente a um controle não suplementado. O nível de suplementação foi de 0,15% para o MHAi e 0,10% para o MHA da matéria seca dietética, iniciando 27 dias após o parto. O MHAi aumentou a produção de leite e os teores e as produções de proteína, gordura e lactose, reduziu o teor de uréia no leite e aumentou a eficiência de utilização do N ingerido para produção de leite. Apesar da MHA ter induzido aumento numérico nas produções de leite, proteína e gordura, o experimento não teve poder suficiente para atestar que a diferença foi estatisticamente significativa. Ocorreu resposta positiva em produção diária de lactose à suplementação com MHA. Apesar do potencial de resposta em lactose à manipulações dietéticas ser considerado baixo (Jenkins & McGuire, 2006), a suplementação com metionina pode ter aumentado a disponibilidade de substratos gliconeogênicos (Danfaer, 1994), proporcionando um maior aporte de glicose para a glândula mamária.

Rulquin et al. (2006) avaliaram o desempenho de vacas leiteiras suplementadas com MHA, MHAi e com metionina encapsulada por um polímero sensível a pH (Smartamine®, Adisseo, França). As concentrações de metionina e lisina na dieta basal, como porcentagem da PDI, foram 1,78% e 7,13%, respectivamente. Nesse caso, foram induzidos déficit dietético de metionina e suprimento da exigência de lisina, por suplementação de dieta à base de silagem de milho com proteína de soja. A suplementação com a metionina encapsulada e com MHAi aumentaram a produção e o teor de proteína do leite, sendo que a MHA não foi efetiva. A suplementação tanto com

MHA quanto com MHAi induziu aumento na concentração de ácidos graxos com número impar de carbonos na gordura do leite. Como a maior fonte de ácidos graxos com número ímpar de carbonos são os lípides de membrana das bactérias ruminais (Harfoot & Hazlewood, 1997), esses resultados sugerem que ambas as formas de metionina foram capazes de estimular a síntese de proteína microbiana no rúmen.

2.3.4.5 Metionina hidroxi análogo e metabolismo microbiano no rúmen

A possível atuação da MHA sobre os microorganismos do rúmen pode explicar parte de seu efeito sobre o desempenho animal. Este precursor de metionina poderia servir como fonte de enxofre ou de metionina para os microorganismos do rúmen. O crescimento microbiano *in vitro* com DL-metionina, MHA ou sulfato inorgânico foi avaliado (Gil et al., 1973). A fonte de nitrogênio para as culturas mistas de microorganismos foi uréia e as fontes energéticas foram glicose, celulose ou amido. A DL-metionina e o MHA estimularam mais o crescimento bacteriano nos tempos iniciais da fermentação. Com dezoito horas de fermentação houve maior digestão de amido nas culturas com MHA. Patterson & Kung Jr. (1988) observaram que a MHA estimulou a digestão da fibra *in vitro*, quando o meio era deficiente em enxofre, comparativamente à metionina e ao sulfato de sódio.

A utilização de nutrientes, por microorganismos ruminais, foi avaliada em cultivo contínuo *in vitro*. As doses de MHA utilizadas nesse trabalho foram 0; 0,2; 0,77 e 1,43% da matéria seca da dieta (Vásquez-Añon et al., 2001). Houve efeito quadrático da suplementação com MHA sobre a síntese de proteína microbiana. Não foi observado efeito dos tratamentos sobre a concentração de ácidos graxos voláteis no fluído e sobre a digestibilidade de nutrientes. Noftsger

et al. (2003) também avaliaram o uso de MHA em cultivo contínuo. Os tratamentos foram 0; 0,055% e 0,11 % da matéria seca em MHA ou metionina. Houve efeito quadrático da MHA sobre a digestibilidade da FDA, 0,055% de suplementação teve o melhor resultado. A suplemetação com MHA aumentou a digestibilidade da FDA, comparativamente à metionina.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CITRUS**.** **Resíduos de polpa citrus**. Disponível em: <http: //www.abecitrus.com.br/>. Acesso em: 02 jan. 2008.

ARIZA, P.; BACH, A.; STERN, M. D.; HALL, M. B. Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, n. 10, p. 2713-2718, Oct. 2001.

ARMENTANO, L. E.; PEREIRA, M. N. Measuring the effectiveness of fiber by animal response trials. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 5, p. 1416-1425, May 1997.

ARMENTANO, L.E.; BERTICS, S.J.; DUCHARME,G.A. Response of lactating cows to methionine or methionine plus lysine to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 6, p. 1194-1199, June 1997.

ARTHINGTON, J. D.; KUNKLE, W. E.; MARTIN, A. M. Citrus pulp for cattle. **Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice,** Philadelphia, v. 18, n. 2, p. 317-326, July 2002.

AUBOIRON, S.; DURAND, D.; BAUCHART, D.; ROBERT, J.; CHAPMAN, M.J. Lipoprotein metabolism in the preruminant calf: Effect of a high fat diet supplemented with L-methionine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 1870-1881, July 1994.

BAMPIDIS, V. A.; ROBINSON, P. H. Citrus by-products as ruminant feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Philadelphia, v. 128, n. 2, p. 175-217, July 2006.

BARON, V. S.; STEVENSON, K. R; BUCHANAN-SMITH, J. G. Proteolysis and fermentation of corn grain ensiled at several moisture levels and under several simulated storage methods. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v .66, n. 2, p. 451-461, June 1986.

BAUMAN, D. E.; DAVIS, C. L.; BUCHOLTZ, H. F. Propionate production in the rumen of cows fed either a control or high-grain, low-fiber diet. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 54, n. 9, p. 1282-1287, Sept. 1971.

BELASCO, I. J. Fate of carbon-14 methionine hydroxy analog and methionine in the lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 5, p. 775-784, May 1980.

BELASCO, I. J. Stability of methionine hydroxy analog in rumen fluid and its conversion in vitro to methionine by calf liver and kidney. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 55, n. 3, p. 353-357, Mar. 1972.

BEN-GHEDALIA, D.; YOSEF, E.; MIRON J.; EST, Y. The effects of starch and pectin rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdan, v. 24, n. 3/4, p. 289-298, July 1989.

BEQUETTE, B. J.; BACKWELL, F. R. C.; CROMPTION, L. A. Current concept of amino acid and protein in the mammary gland of the lactating ruminant. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 9, p. 2540-2559, Sept. 1998.

BRADFORD, B. J.; GOUR, A. D.; NASH, A. S.; ALLEN, M. S. Propionate challenge tests have limited value for investigating bovine metabolism. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 136, n. 7, p. 1915 -1920, July 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 8 de 25 de março de 2004. Programa Nacional de controle de raiva dos herbívoros e ações para a prevenção e controle das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EET). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 59, p. 5, 26 mar. 2004. Seção 1.

BRODERICK, G. A.; KOWALCZYK, T.; SATTER, L. D. Milk production response to supplementation with encapsulated methionine per os or casein per abomasum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 53, n. 12, p. 1714-1721, Dec. 1970.

BRODERICK, G. A.; MERTENS, D. R.; SIMONS, R. Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 7, p. 1767-1776, July 2002.

BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E. The sulfur-containing amino acids: an overview. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 136, p. 1636S-1640S, 2006. Supl.

BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E.; BERTOLO, R. F. P.; BRUNTON, J. A. Methionine: a metabolically unique amino acid. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 112, n. 1-2, p. 2-7, Oct. 2007.

CARVALHO, G. Os efeitos do etanol e biodiesel nos preços dos insumos para alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 8., 2007, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: PMU, 2007. p. 103-122.

CHALUPA, W.; SNIFFEN, C. Balancing rations on the basis of amino acids: The CPM-dairy approach. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 21., 2006, Tempe. **Proceedings…** Tempe: University of Arizona, 2006.

CLARK, J. H.; SPIRES, H. R.; DERIG, R. G. Postruminal administration of glucose and Na-caseinate in lactating cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 3, p. 2233-2238, Mar. 1988.

COORS, J. G.; CARTER, P. R.; HUNTER, R. B. Corn silage. In: HALLAVER, A. R. **Specialty Corns.** Ames: CRC, 1994. p. 305-340.

CORREA, C. E. S.; SHAVER, R. D.; PEREIRA, M. N.; LAUER, J. G.; KOHN, K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v .85, n. 11, p. 3008-3012, Nov. 2002.

COSTA, H. N. **Efeito do ambiente ruminal sobre a degradabilidade in situ da cana de açúcar.** 2002, 51 p. Dissertação (Mestrado em produção Animal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

COSTA, H. N.; PEREIRA, M. N.; MELO, R. P.; CHAVES, M. L. Effect of the rumen environment on ruminal in situ degradability of sugarcane. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., 2003, Porto Alegre. **Proceedings…** Porto Alegre: UFRGS. 2003. p. 33.

DANFAER, A. Nutrient metabolism and utilization in the liver. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 115-127, June 1994.

DEHORITY, B. A. Pectin-fermenting bacteria isolated from the bovine rumen. **Journal of Bacteriology**, v. 99, p. 189-196, 1969.

DIAS JÚNIOR, G. S.; VAN VUGT, A.; WARRINGA, G.; MELLO, C. A.; PEREIRA, M. N. Suplementation of lactating cows receiving high citrus pulp diets with heated soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85 n. 1, p. 102, Aug. 2007.

DIBNER, J. J. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid. **World's Poultry Science Journal**, Beekbergen, v. 59, n. 1, p. 99-110, Mar. 2003.

DIBNER, J. J.; KNIGHT, C. D. Conversion of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid to L-methionine in the chick: A stereospecific pathway. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 114, n. 9, p.1716 -1723, Sept. 1984.

DOEPEL, L. PACHECO, D. KENNELLY, J.J.; HANIGAN, M.D.; LÓPEZ, I.F.; LAPIERRE, H. Milk protein synthesis as a function of amino acid supply. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 5, p. 1279-1297, May 2004.

DONKIN, S. S.; VARGA, G. A.; SWEENWY, T. F.; MULLER, L. D. Rumen-protected methionine and lysine: effects on animal performance, milk protein yield, and physiological measures. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, N. 6, P. 1484-1491, JUNE 1989.

DAIRY PARTNERS AMÉRICAS.**Pagamento de leite pela empresa DPA.** Disponível em: <http://www.dpamericas.com.br/>. Acesso em: 05 out. 2005.

DUSKOVÁ, D.; MAROUNEK, M. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin-degrading enzymes in the rumen bacterium *Lachnospira multiparous*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 159-163, Aug. 2001.

FISCHER, H. Variations in the urinary creatinine excretion of rats fed diets with different protein and amino acid content. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 85, n. 2, p. 181-186, 1965.

GALYEAN, M. L., WAGNER, D. G., OWENS, F. Dry matter and starch disappearence of corn and sorghum as influenced by particle size and processing. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, p. 1804-1812, 1981.

GAYNOR, P. J.; ERDMAN, R. A.; TETER, B. B.; SAMPUGNA, J.; CAPUCO, A. V.; WALDO, D. R.; HAMOSH, M. Milk fat yield and composition during abomasal infusion of *cis*- or *trans*- octadecenoates in Holstein cows. **Journal of dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 9, p. 2304-2323, Sept. 1994.

GHEMAN, A. M.; BERTRAND, J. A.; JENKINS, T. C.; PINKERTON, B. W. The effect of carbohydrate source on nitrogen capture in dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 7, p. 2659-2667, July 2006.

GIL, L. A.; SHIRLEY, R. L.; MOORE, J. E. Effect of methionine hydroxy analog on bacterial protein synthesis from urea and glucose, starch or cellulose by rumen microbes, in vitro. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 37, n. 1, p. 159-163, Jan. 1973.

GRADEL, C. M.; DEHORITY, B. A. Fermentation of isolated pectin and pectin from intact forages by pure cultures of rumen bacteria. **Applied Bacteriology,** Washington, n. 2, p. 332-340, 1972.

GRIEL, L. C.; PATTON, R. A.; McCARTHY, R. D.; CHANDLER, P. T. Milk production response to feeding methionine hydroxy analog to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 51, n. 2, p. 1866-1869, 1968.

GRIINARI, J. M.; McGUIRE, M. A.; DWYER, D. A.; BAUMAN, D. E.; BARBANO, D. M.; HOUSE, W. A. The role of insulin in the regulation of milk protein synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 11, p. 2361-2371, Nov. 1997.

HALL, M. B. Terra incognita: updates on feeding nonfiber carbohydrates to dairy cows (Yes, it does matter). In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 15., 2004, Gainesville. **Proceedings…** Gainesville: NACAA, 2004

HALL, M. B. Working with sugars (and molasses). In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 13., 2002, Gainesville. **Proceeding…** Gainesville: University of Florida, 2002.

HALL, M. B.; HEREJK, C. Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 11, p. 2486-2493, Nov. 2001.

HALL, M. B.; HOOVER, W. H.; JENNINGS, J. P.; WEBSTER, T. K. M. A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 79, n. 15, p. 2079-2086, Nov. 1999.

HALL, M. B.; LEWIS, B. A.; VAN SOEST, P. J.; CHASE, L. E. A simple method for estimation of neutral detergent-soluble fiber. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, London, v. 74, n. 4, p. 441-449, Aug. 1997.

HALL, M. B.; PELL, A. N.; CHASE, L. E. Characteristics of neutral detergent-soluble fiber fermentation by mixed ruminal microbes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 70, n. 1/2, p. 23-39, 1998.

HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P. N. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. London: Elsevier Applied Science, 1997. p. 285-322.

HRISTOV, A. N.; ROPP, J. K. Effect of dietary carbohydrate composition and availability on utilization of ruminal ammonia for milk protein synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 7, p. 2416- 2427, July 2003.

HOLTER, J. B.; KIM, C. W; COLOVOS, N. F. Methionine hydroxy analog for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 55, n. 4, p. 460-465, Apr. 1972.

HUBER, J. T.; EMERY, R. S.; BERGEN, W. G.; LIESMAN, J. S.; KUNG, J. R. L.; KING, K. J. Influences of methionine hydroxy analog on milk and milk fat production, blood serum lipids, and plasma amino acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 11, p. 2525-2531, Nov. 1984.

INSTITUTE NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA). **Ruminant nutrition:** recommended allowances and feed tables. Paris: John Libbey Eurotext, 1989. 389 p.

JENKINS, T. C.; McGUIRE, M. A. Major Advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 1302-1310, Apr. 2006.

KNOWLTON, K. F., GLENN, B. P., ERDMAN, R. A. Effect of corn grain maturity and processing on performance, rumen fermentation, and site of starch digestion in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.79, n. 1, p. 138, 1996. Suppl.

KNOWLTON, K. F.; GLENN, B. P.; ERDMAN, R. A. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v .81, n. 7, p. 1972- 1984, July 1998.

KOENIG, K. M.; RODE, L. M.; KNIGHT, C. D.; McCULLOUGH, P. R. Ruminal escape, gastrointestinal absorption, and response of serum methionine to supplementation of liquid methionine hydroxyl analog in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 2, p. 355-361, Feb. 1999.

KORHONEN, M.; VANHATALO, A.; VARKIKKO, HUHTHANEN, P. Responses to graded doses of histidine in dairy cows fed grass silage diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 11, p. 2596-2608, Nov. 2000.

KOTARSKI, M.; WANISKA, R. D.; THURN, K. K. Starch hydrolysis by ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 122, n. 1, p. 178-190, Jan. 1992.

LAPIERRE, H.; LOBLEY, G. E. Nitrogen recycling in the ruminant: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. E223-E236, 2001. Electronic Supplement.

LAPIERRE, H.; PACHECO, D.; BERTHIAUME, R.; OUELLET, D. R.; SCHAWB, C. H. What is the true supply of amino acids for a dairy cow? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. E1-E14, 2006. Electronic Supplement.

LAPIERRE, H.; VÁSQUEZ-AÑÓN, M.; PARKER, D.; DUBREUIL, P.; LOBLEY, G. E. Short communication: Absorption of 2-hydroxy-4-metilthiobutanoate in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 2937-2940, June 2007.

LARSON, C. C. **The effects of nonfiber carbohydrate source and protein degradability on lactation performance of Holstein cows**. 2003. 108 p. Thesis (Master of Science) – University of Florida, Gainesville.

LEES, J. A.; OLDHAM, J. D.; HARESIGN, W.; GARNSWORTHY, P. C. The effects of patterns of rumen fermentation on the response by dairy cows to dietary protein concentration. **British Journal of Nutrition**, New York, v. 63, n. 2, p. 177-186, Mar. 1990.

LEIVA, E.; HALL, M. B.; VAN HORN, H. H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 12, p. 2866-2875, Dec. 2000.

LEONARDI, C.; STEVENSON, M.; ARMENTANO, L.E. Effect of two leves of crude protein and methionine supplementation on performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 12, p. 4033-4042, Dec. 2003.

LIU, Z. J.; McMENIMAN, N. P. Effect of nutrition level and diets on creatinine excretion by sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 63, n. 3, p. 265-273, June 2006.

LOBLEY, G. E.; WESTER, T. J.; CALDER, A. G.; PARKER, D. S.; DIBNER, J. J.; VÁSQUEZ-AÑÓN, M. Absorption of 2-hydroxy-methylthiobutyrate and conversion to methionine in lambs. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 3, p. 1072-1080, Mar. 2006.

LOERCH, S. G.; OKE, B. O. Rumen protected amino acids in ruminant nutrition. In: FRIEDMAN, M. **Absorption and utilization of amino acids.** Boca Raton: CRC, 1989. v. 3, chap. 12, p. 187-200.

MACKLE, T. R.; DWYER, D. A.; INGVARTSEN, K. L.; CHOUINARD, P. Y.; LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M.; BAUMAN, D. E. Effects of insulin and amino acids on milk protein concentration and yield from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 7, p. 1512-1524, July 1999.

MAROUNEK, M.; BARTOS, S.; BREZINA, P. Factors influencing the production of volatile fatty acids from hemicellulose, pectin and starch by mixed culture of rumen microorganisms. **Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierenährung and Futtermittelkunde,** Hamburg, v. 53, n. 1/2, p. 50-58, 1985.

MAROUNEK, M.; DUSKOVÁ, D. Metabolism of pectin in rumen bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* and *Prevotella ruminicola*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 159-163, Aug. 1999.

McALLISTER, T. A.; PHILLIPE, R. C.; RODE, L. M.; CHENG, K. J. Effect of protein matrix on the digestion of cereal grains by microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 1, p. 205-212, Jan. 1993.

McALLISTER, T. A.; RODE, L. M.; MAJOR, D. J.; CHENG, K. J.; BUCHANAN-SMITH, J.G. Effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 2, p. 205-212, June 1990.

McCOLLUM, M.Q.; VÁSQUEZ-AÑÓN, M.; DIBNER, J. J.; WEBB, J. R.; K. E. Absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid by isolated sheep ruminal and omasal epithelia. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 4, p. 1078-1083, Apr. 2000.

MIRON, J.; YOSEF, E.; BEN-GHEDALIA, D. Composition and in vitro digestibility of monosaccharide constituents of selected byproducts feeds. **Journal of Agricultural of Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 5, p. 2322-2326, May 2001.

MOORBY, J. M.; DEWHURST, R. J.; EVANS, R. T.; DANELÓN, J. L. Effects of dairy cow diet forage proportion on duodenal nutrient supply and urinary purine derivative excretion. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 9, p. 3552-3562, Sept. 2006.

MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T. C.; LUIMES, P. H.; McBRIDE, B. W.; SUSMEL, P. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n.7, p. 2421-2329, July 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. ed. Washington: National Academy of Sciences, 2001. 381 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 4. ed. Washington: National Academy of Sciences, 1971. (Nutrient Requirements of Domestic Animals. n. 3).

NICHOLS, J. R.; SCHINGOETHE, D. J.; MAIGA, H. A.; BROUK, M. J.; PIEPENBRINK , M. S. Evaluation of corn distillers grains and ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 2, p. 482-491, Feb. 1998.

NOFSTGER, S. M.; St-PIERRE, N. R, SYLVESTER, J. T. Determination of rumen degradability and ruminal effects of three sources of methionine in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 223-237, Jan. 2005.

NOVUS INTERNATIONAL**. Products.** Disponível em: <http://www.novusint.com/species/dairy/products>. Acesso em: 22 jan. 2008.

O'CONNOR, J. D.; SNIFFEN, C. J.; FOX, D. G.; CHALUPA, W. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 5, p. 1298-1311, May 1993.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 1, p. 184-194, Jan. 2003.

PATTERSON, J. A.; KUNG, J. R. L. Metabolism of dl-methionine and methionine analogs by rumen microorganisms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 12, p. 3292-3301, Dec. 1988.

PEREIRA, E. M.; SANTOS, F. A. P.; NUSSIO, L. G.; PEDROSO, A. M.; COSTA, D. F. A.; IMAIZUMI, H.; BITTAR, C. M. M. Estimativa de energia metabolizável de rações com polpa cítrica em substituição ao milho para tourinhos em terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 1, p. 216-224, jan./fev.2007.

PEREIRA, M. N.; VON PINHO, R. G., BRUNO, R. G. S.; CALESTINE, G. A. Ruminal degradation of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, p. 353-467, 2004.

PETERS, J. P.; ELLIOT, J. M. Endocrine changes with infusion of propionate in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 10, p. 2455-2459, Oct. 1984.

PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and ensiling of corn grain on in situ degradation of starch in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 8, p. 2178-2184, Aug. 1998.

PHILIPPEAU, C.; LE DESCHAULT DE MONREDON, F.; MICHALET-DOREAU, B. Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 1, p. 238-243, Jan. 1999.

PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 68, n. 1-2, p. 25-35, Sept. 1997.

PINOTTI, L.; BALDI, A.; DELLÓRTO, V. Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. **Nutrition Research Reviews**, Wallingford, v. 15, n. 2, p. 315-331, Dec. 2002.

PINZON, F. J.; WING, J. M. Effects of citrus pulp in high urea ration for steers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 59, n. 6, p. 1100-1103, June 1976.

PISULEWSKI, P. M.; RULQUIN, H.; PEYRAUD, J. L.; VERITÉ, R. Lactational and systemics responses of dairy cows to postruminal infusions of increased amounts of methionine. **Journal of Dairy Science**, Chamapaign, v. 79, n. 10, p. 1781-1791, Oct. 1996.

POLAN, C. E.; CHANDLER, P. T.; MILLER, C. N. Methionine hydroxy analog: varying leves for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 53, n. 5, p. 607-610, May 1970.

REIS, R. B.; SAN EMETERIO, F.; COMBS, D. K.; SATTER, L. D.; COSTA, H. N. Effect of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 2, p. 429-441, Feb. 2001.

ROBERT, J. C.; RICHARD, C.; BOUZA, B. Influence of monomer or dimmer forms of isopropyl ester of HMB, on the supply of metabolizable methionine to the blood of ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, Champaign, n. 1, p. 281, 2001. Suppl.

ROCHA FILHO, R. R.; MACHADO, P. F.; D'ARCE, R. D.; FRANCISCO JÚNIOR, J. C. Citrus and corn pulp related to rúmen volatile fatty acids. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 471-477, abr./jun. 1999.

RULQUIN, H.; DELABY, L. Effects of the energy balance of dairy cows on lactational responses of rumen-protected methionine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 10, p. 2513-2522, Oct. 1997.

RULQUIN, H.; GRAULET, B.; DELABY, L.; ROBERT, J. C. Effect of different forms of methionine on lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 4387-4394, Oct. 2006.

RULQUIN, H.; PISULEWSKI, P. M. Effects of duodenal infusion of graded amounts of His on mammary uptake and metabolism in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 1, p. 164, 2000a. Suppl.

RULQUIN, H.; PISULEWSKI, P. M. Effects of duodenal infusion of graded amounts of Leu on mammary uptake and metabolism in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 1, p. 164, 2000b. Suppl.

RULQUIN, H.; PISULEWSKI, P. M. Effects of duodenal infusion of graded amounts of Phe on mammary uptake and metabolism in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 267-268, 2000c. Suppl.

RULQUIN, H.; PISULEWSKI, P. M.; VERITÉ, R.; GUINARD, J. Milk production and composition as a function of postruminal lysine and methionine supply: a nutrient-response approach. **Livestock Production Science,** Amsterdam, v. 37, n. 1/2, p. 69-90, Dec. 1993.

RULQUIN, H.; VERITÉ, R. Amino acid nutrition of dairy cows: productive effects and animal requirements. In: GARNSWORTHY, P. C.; COLE, D. J. A. (Ed). **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham: Nothingam University, 1993. p. 55-77.

RULQUIN, H.; VERITÉ, R.; GUINARD-FLAMENT, J. Acides aminés digestibles dans l´intestin. Le système AADI et les recommendations d´apport pour la vache laitière. **INRA Production Animales,** Versailles, v. 14, n. 4, p. 265-274, 2001.

SALVADOR, C. S.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; MELO, L. Q.; CHAVEZ, M. L. Resposta de vacas leiteiras à substituição total do milho por polpa cítrica e à suplementação com minerais orgânicos I: consumo e digestão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** 2008a. No prelo.

SALVADOR, C. S.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; MELO, L. Q.; CHAVEZ, M.L. Resposta de vacas leiteiras à substituição total do milho por polpa cítrica e à suplementação com minerais orgânicos II: desempenho e economia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1142 – 1149, 2008b.

SANNES, R. A.; MESSMAN, M. A.; VAGNONI, D. B. Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 4, p. 900-908, Apr. 2002.

SCHWAB, C. G. Rumen-protected amino acids for dairy cattle: Progress towards determining lysine and methionine requirements. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 59, n. 1/3, p. 87-101, June 1996.

SCHWAB, C. G.; ORDWAY, R. S.; WHITEHOUSE, N. L. Amino acid balancing in the context of MP and RUP requirements. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 15., 2004, Gainesville. **Proceedings…** Gainesville: University of Florida, 2004. p. 20-26.

SCHWAB, C. G.; SATTER, L. D.; CLAY, A. B. Response of lactating dairy cows to abomasal infusions of aminoacids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 59, n. 7, p. 1254-1270, July 1976.

SCHWAB, C. G; BOZAK, C. K.; WHITEHOUSE, N. L.; OLSON, V. M. Amino acid limitation and flow to the duodenum at four stages of lactation. 2. Extent of lysine limitation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 12, p. 3503-3518, Dec. 1992.

SCOTT, J. R. Grapefruit refuse as a dairy feed. **Florida Agricultural Experimental Station Annual Report**, Gainesville, 25R – 26R, 1926.

SHAVER, R.D. Impact of vitreousness, processing, and chop length on the utilization of corn silage by dairy cows. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 14., 2003, Gainsville. **Proceedings…** Gainesville: University of Florida, 2003.

SOLOMON, R.; CHASE, L. E.; BEN-GHEDALIA, D.; BAUMAN, D. E. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugates linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 83, n. 6, p. 1322-1329, June 2000.

STEAD, L. M.; BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E.; VANCE, D. E.; JACOBS, R. L. Is it time to reevaluate methyl balance in humans? **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 83, n. 1, p. 5-10, Jan. 2006.

STOKES, M. R.; CLARK, J. H.; STEINMETZ, L. M. Performance of lactating dairy cows fed methionine or methionine analog at two concentrations of dietary crude protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, n. 8, p. 1686- 1694, Aug. 1981.

St-PIERRE, N. R.; SYLVESTER, J. T. Effects of 2-hidroxy-4- (methylthio) butanoic acid (HMB) and its isopropyl ester on milk production and composition by Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v .88, n. 7, p. 2487-2497, July 2005.

STROBEL, H. J.; RUSSEL, J. B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 11, p. 2941-2947, Nov. 1986.

TAVARES, A. A. C.; PEREIRA, M. N.; TAVARES, R. T.; CHAVES, M. L. Performance of Holstein-Zebu cows under partial replacement of corn by coffee hulls. **Scientia Agricola,** Piracicaba, v. 62, n. 1, p .95-101, jan./fev. 2005.

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A. Effects of supplementation of energy or ruminally undegraded protein to lactating cows fed alfalfa hay or silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 8, p. 1703-1712, Aug. 1997.

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K.; HATFIELD, R. D. Excretion of purine derivatives by Holsteins cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 8, p .1695-1702, Aug. 1997.

VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES, 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**, Champaign, v. 82, n. 12, p. 2686-2696, Dec. 1999.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of ruminant**. 2. ed.Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.

VANHATALO, A.; HUHTHANEN, P.; TOIVONEN, V.; VARKIKKO, T. Responses of dairy cows fed grass silage diets to abomasal infusions of histidine alone or in combinations with methionine and lysine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 12, p. 2674-2685, Dec. 1999.

VARKIKKO, T.; VANHATALO, A.; JALAVA, T.; HUHTANEN, P. Lactation and metabolic responses to graded abomasal doses of methionine and lysine in cows fed grass silage diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 12, p. 2659-2673, Dec. 1999.

VÁSQUEZ-AÑÓN, M.; CASSIDY, T.; McCULLOUGH, P.; VARGA, G. A. Effects of alimet on nutrient digestibility, bacterial protein synthesis, and ruminal disappearance during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 1, p. 159-166, 2001.

VIJCHULATA, P.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B.; POTTER, S. G.; PALMER,A. Z.; BECKER, H. N. Effect of dried citrus pulp and cage layer manure in combination with monensin on performance and tissue mineral composition in finishing steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 50, n. 6, p. 1022-1030, June 1980.

WALLENIUS, R. W.; WHITCHURCH, R. W. Methionine hydroxy analog or sulfate supplementation for high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, n. 9, p. 1314-1319, Sept. 1975.

WEEKES, T. L.; LUIMES, P. H.; CANT, J. P. Responses to amino acid imbalances and deficiencies in lactating dairy cows. **Journal of dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 6, p. 2177-2187, June 2006.

WESTER, T. J.; VÁSQUEZ-AÑÓN, M.; DIBNER, J.; PARKER, D. S.; CALDER. A. G.; LOBLEY, G. E. Hepatic metabolism of 2-hydroxy-4-methylthiobutyrate in growing lambs. **Journal of dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 3, p. 1062-1071, Mar. 2006.

WILKERSON, V. A.; GLENN, B. P.; MCLEOD, K. R. Energy and nitrogen balance in lactating cows fed diets containing dry or high moisture corn in either rolled or ground form. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 10, p. 2487-2496, Oct. 1997.

WU, Z.; FISCHER, R. J.; POLAN, C. E.; SCHWAB, C. G. Lactational performance of cows fed low or high ruminally undegradable protein prepartum and supplemental methionine and lysine postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 4, p .722-729, Apr. 1997.

YAMANAKA, H. T. **Sucos cítricos**. São Paulo: CETESB/SMASP, 2005. 45 p.

CAPÍTULO II

SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DA SILAGEM DE GRÃOS DE MILHO DE TEXTURA DURA OU MACIA POR DOIS TEORES DE POLPA CÍTRICA EM DIETAS DE VACAS EM LACTAÇÃO

Flávio Marcos Junqueira Costa[1]; Marcos Neves Pereira[2]; Junio Fabiano dos Santos[3]; Gilson Sebastião Dias Júnior[4] e Ozana de Fátima Zacaroni[4].

[1] Doutorando em Produção Animal – DZO – UFLA
[2] Profº. Associado – DZO – UFLA
[3] Mestrando em Produção Animal – DZO – UFLA
[4] Graduando em Medicina Veterinária – DMV – UFLA

RESUMO

COSTA, Flávio Marcos Junqueira. Substituição parcial da silagem de grãos de milho dura ou macia por dois teores de polpa cítrica em dietas de vacas em lactação. In:_____. **Resposta de vacas leiteiras alimentadas com polpa cítrica em substituição ao milho, à suplementação com metionina e à ensilagem de grãos de milho duro ou dentado.** 2008, Cap. 2, p 60-86. Tese. 122p. (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

O desempenho de vacas leiteiras de alta produção consumindo dietas formuladas com alta inclusão de polpa cítrica peletizada e dois teores de grãos de milho de textura dura ou macia ensilados no estádio de linha negra foi avaliado. Doze vacas holandesas com 111 ± 50 dias em lactação no início do período experimental receberam a sequência de quatro tratamentos em três quadrados latinos 4x4, de 21 dias de duração. Os tratamentos consistiram de: milho duro (Tork) ou dentado (AG 4051) ensilados no estágio de maturação de linha negra, num arranjo fatorial com 9% ou 18% milho da MS de inclusão. Polpa de citros substitui o milho na dieta na dieta de baixo amido, sendo as inclusões desse subproduto 16,2 ou 25,6% da MS. Outros ingredientes em % da MS foram: 33,9% silagem de milho (47,7% FDN), 15,6% de feno de tifton (73,6% FDN), 13,6% de farelo de soja e 0,85% de uréia. O teor de proteína bruta da dieta foi de 15,3% e de FDN de forragem foi de 27,7% da MS. As dietas de alto amido diminuíram o teor de gordura do leite de 3,38 de 3,26% (P=0,04) e aumentaram o teor de proteína de 2,99 para 3,03% (P=0,05). Aumento na inclusão dietética de amido oriundo do grão ensilado também induziu maior queda no pH ruminal na dieta com milho dentado do que na dieta com milho duro (P=0,06 para interação de textura e inclusão de amido). Milho de textura macia do endosperma colhido e ensilado no estádio de maturação de linha negra resultou em maior consumo diário de matéria orgânica digestível por vaca, (11,7 e 12,3 kg, P=0,05), porém não houve efeito estatisticamente significativo sobre desempenho animal.

ABSTRACT

COSTA, Flávio Marcos Junqueira. Partial replacement of high moisture corn of dent or flint endosperm by citrus pulp in lactating cow diets**.** In:_____. **Performance of dairy cows fed citrus pulp in substitution to corn, to the supplementation with methionine and to the ensilaging of flint or dent corn grain..** 2008. Cap. 2, p. 60-86, 2008, 122 p. Thesis (Doctor in Animal Science Program) – Federal University of Lavras, Lavras,MG.

The performance of high producing cows in diets with high inclusion of citrus pulp and two levels of high moisture corn of dent or flint endosperm was evaluated. Twelve Holstein cows with 111 ± 50 days in milk received a sequence of the four treatments in three, 21-day period, 4x4 Latin Squares. Treatments were: Flint (Tork) or dent (AG 4051) corn factorialized with 9% or 18% of corn grain in diet DM. Pellets of citrus pulp replaced corn in the low starch diet, citrus pulp inclusions were 16.2 or 25.6% of diet DM. Other feed ingredients as a % of diet DM were 33.9% corn silage (47.7% NDF), 15.6% tifton hay (73.6% NDF), 13.6% soybean meal and 0.85% urea. The diets contained 50% forage, 15.3% CP and 27.7% forage NDF. The high starch diets decreased milk fat content from 3.38 to 3.26% (P=0.04) and increased milk protein content from 2.99 to 3.03% (P=0.05). The high dietary starch content decreased the 12-hour post feeding, single point ruminal pH more in the dent corn diet than it did in the flint corn diet (P=0.06 for the interaction of texture and starch content). The daily intake of digestible organic matter was 11.7 kg for flint and 12.3 kg for dent corn (P=0.05), although no significant effects on animal performance were detected.

1 INTRODUÇÃO

Na região Sudeste do Brasil, o uso de polpa de citros em substituição ao milho é uma alternativa para formular dietas para vacas em lactação, já que o Brasil é o maior produtor mundial deste subproduto e o estado de São Paulo concentra 70% da produção nacional de laranja e 98% da produção de suco (Abecitrus, 2008). A polpa cítrica é rica em pectina, sacarose e fibra de alta digestibilidade (Miron et al. 2001), sendo um alimento energético capaz de substituir o amido oriundo de cereais nos concentrados para vacas leiteiras.

O aumento no preço internacional do milho, devido ao seu uso para produção de biocombustíveis (Carvalho, 2007), torna a substituição de milho por polpa cítrica mais atrativa. Esta substituição dietética, além de ser interessante financeiramente, pode também se justificar pela baixa degradabilidade ruminal do amido nos híbridos de milho brasileiros (Corrêa et al., 2002). Devido às práticas entre a colheita e o armazenamento dos grãos, a indústria brasileira de sementes de milho optou por híbridos do tipo duro, com textura dura do endosperma. Grãos duros, de alta vitreosidade, têm endosperma rico em matriz protéica, que limita a degradabilidade do amido no rúmen (McAllister et al., 1993; Philippeau et al., 1999). A digestibilidade da polpa cítrica pode ser semelhante ou maior, que a do milho do tipo duro em estádio maduro de maturação (Pereira et al., 2007).

O uso de híbridos de milho capazes de reduzir a disponibilidade do amido no rúmen pode reduzir o fluxo ruminal de proteína microbiana, especialmente em dietas com alta inclusão de polpa cítrica. Salvador et al. (2008b) verificaram que a substituição total de milho por polpa cítrica reduziu a secreção diária de leite e proteína, comparativamente à uma dieta contendo 10% de milho maduro finamente moído. O crescimento dos microorganismos

ruminais em dietas à base de pectina parece ser distinto do crescimento à base de amido (Marounek & Dusková, 1999; Hall & Herejk, 2001). Essa diferença no fluxo de aminoácidos microbianos do rúmen pode explicar parte da resposta negativa em produção e/ou teor de proteína no leite quando a polpa cítrica substitui milho na dieta de vacas leiteiras de alta produção (Leiva et al., 2000; Solomon et al., 2000; Broderick et al., 2002; Salvador et al., 2008b). Em dietas com alto teor de polpa cítrica, é preciso quantificar a resposta potencial em desempenho animal a estratégias capazes de ampliar a digestibilidade do amido em grãos de textura dura e gerar informação quanto à necessidade de inclusão dietética mínima de amido oriundo do milho.

Uma estratégia capaz de aumentar a degradabilidade ruminal do amido em grãos com textura dura do endosperma seria a colheita do grão antes do estádio maduro de maturação (Shaver, 2003; Pereira et al., 2004) e a indução de degradação da matriz protéica por ensilagem e a conseqüente proteólise por enzimas microbianas durante esse processo (Baron et al., 1986; McAllistter et al., 1993). A ensilagem do grão de milho no estádio de maturação de linha negra, a silagem de grão úmido, pode contrapor o efeito negativo da textura sobre a degradabilidade ruminal do amido (Philippeau & Michalet-Doureau, 1998). Existem evidências de que a utilização de milho na forma de silagem de grão úmido aumenta a digestibilidade do amido no rúmen e no trato digestivo total (Galyean et al., 1981; Knowlton et al., 1996; Wilkerson et al., 1997; Knowlton et al., 1998; Oba & Allen, 2003).

O objetivo deste experimento foi avaliar o desempenho de vacas leiteiras de alta produção consumindo dietas formuladas com alta inclusão de polpa cítrica peletizada e nove ou 18% da matéria seca de grãos de milho de textura dura ou macia ensilados no estádio de linha negra.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Doze vacas Holandesas, oito multíparas e quatro primíparas, com 111 ± 50 dias em lactação no início do período experimental (média ± desvio padrão), foram individualmente alimentadas em confinamento total do tipo "Tie Stall" com camas de areia e acesso contínuo a água. As oito multíparas foram blocadas em dois grupos de quatro animais com base na produção de leite imediatamente anterior ao início do período experimental e aleatoriamente alocadas a uma de quatro possíveis seqüências de quatro tratamentos em dois quadrados latinos 4 x 4, com períodos de 21 dias. Um terceiro quadrado latino foi constituído apenas pelas primíparas. Os três quadrados foram conduzidos simultaneamente e a sequência de aplicação dos tratamentos objetivou balanceamento para efeito residual.

Um arranjo fatorial 2x2 de dois fatores definiu os quatro tratamentos: Textura do endosperma do milho e teor dietético de polpa cítrica. Um híbrido de milho com textura dura do endosperma (Novartis Tork, Sementes Syngenta, Uberlândia, MG) e outro híbrido com textura macia (Agroceres AG 4051, Sementes Agroceres, Uberlândia, MG) foram cultivados em campos experimentais adjacentes na estação chuvosa de 2002-2003. Os grãos foram colhidos no estádio de maturação de linha negra e ensilados após moagem fina e com uso de inoculante (Biomax 5®, Chr. Hansen, Valinhos, SP) em silos tipo trincheira dimensionados para descarregamento de toda a superfície externa em fatias diárias nunca inferiores a 20 cm de profundidade.

O teor de matéria seca do grão no momento da colheita foi de 66,6% para o híbrido duro (duro) e 68,4% para o dentado (dentado). A vitreosidade dos grãos, determinada por dissecação manual do endosperma (Dombrink-Kurtzman & Bietz, 1993), foi 68,2% do endosperma para o grão duro e 48,5% para o dentado. A idade das plantas à colheita foi de 124 dias após o plantio para o

híbrido duro e de 131 dias para o dentado. O tamanho de partícula de cada silagem de grão úmido foi mensurado num separador de partículas de seis peneiras. A proporção de partículas em cada peneira foi determinada por agitação por 5 minutos das amostras desidratadas em estufa ventilada a 55°C por 72 horas (TABELA 5).

Para confeccionar os quatro tratamentos, as duas silagens de grãos na linha negra foram incluídas em duas proporções na matéria seca da dieta: 18% (Amido alto) e 9% (Amido baixo). Os quatro tratamentos foram: Silagem de grão dentado e amido alto (DEAA), silagem de grão duro e amido alto (DUAA), silagem de grão dentado e amido baixo (DEAB) e silagem de grão duro e amido baixo (DUAB). As forragens utilizadas foram: silagem de milho (Agroceres AG 1051 - Sementes Agroceres, Uberlândia, MG) e feno de Tifton 85. O milho para ensilagem foi colhido em estádio de maturação ao redor de 1/3 da linha do leite e continha 26,1% de MS, 47,6% de FDN e 7,5% de PB e o feno de Tifton continha 91,1% de MS, 73,4% de FDN e 11,9% de PB.

Os ingredientes dietéticos foram pesados e misturados manualmente duas vezes ao dia para fornecimento às 7:00 e às 16:00 horas na forma de dieta completa, em quantidade suficiente para propiciar 15% do oferecido como sobra diária.

TABELA 5. Partículas das silagens de grão úmido de milhos híbrido duro (DURO) e dentado (DENTADO) retidas em diferentes peneiras.

GRANULOMETRIA	DURO	DENTADO
	% da matéria seca	
> 2 mm	62,5	66,3
> 1 mm e < 2 mm	22,5	16,9
> 0,5 mm e < 1 mm	10,1	7,9
> 0,25 mm e < 0,5 mm	3,3	6,6
> 0,105 mm e < 0,25 mm	1,5	2,2
< 0,105 mm	0,1	0,1

A proporção de ingredientes na matéria seca dietética foi mantida constante por monitoramento semanal da porcentagem de matéria seca da silagem de milho e da silagem de grão úmido por desidratação em aparelho do tipo Koster (Koster Crop Tester, Strongsville, EUA). A sobra alimentar de cada animal foi pesada diariamente antes da alimentação da manhã. Nos dias 16 a 20 de cada período as sobras foram amostradas e congeladas. Uma amostra composta foi formada por vaca e por período por união de quantidades idênticas de matéria natural das sobras diárias. Nos dias 15 a 19 também foram coletadas amostras diárias da silagem de milho, das silagens de grão úmido, do feno de Tifton e dos outros alimentos concentrados; uma amostra composta foi formada para cada alimento por período.

As amostras compostas por período de sobras por vaca e alimentos foram desidratadas em estufa ventilada por 72 horas a 55°C e moídas em moinho tipo Thomas-Wiley com peneira de 1 mm. Uma sub-amostra foi levada a estufa de 105°C por 24 horas, para determinação do teor de matéria seca. A proteína bruta foi determinada por aparelho de destilação a vapor Microkjeldahll (AOAC, 1975). O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração a 550°C por 8 horas. A FDN foi determinada por análise não seqüencial, de acordo com Van Soest et al. (1991). A técnica de FDN utilizou 0,5 g de sulfito de sódio e 200 μl de α-amilase, 100 μl adicionados ao béquer, durante a fervura da amostra em solução de detergente neutro e 100 μl quando da filtragem em cadinho com água quente. O extrato etéreo foi determinado segundo o AOAC (1980).

O consumo diário de matéria seca (CMS) foi calculado multiplicando o consumo diário de matéria natural de cada alimento, entre os dias 15 a 20 de cada período, por seu respectivo teor de matéria seca, seguido de subtração da sobra diária de matéria seca. A ingestão diária de nutrientes por animal foi calculada multiplicando o oferecido de matéria seca de cada ingrediente por seu respectivo teor nutritivo. Do total de nutrientes oferecidos foi subtraída a massa

diária do mesmo nutriente na sobra de cada animal. A composição em nutrientes da dieta consumida foi igual à ingestão total de nutrientes das doze vacas por tratamento ao longo de todo o período experimental dividido pelo total de consumo de matéria seca desses animais no mesmo período (TABELA 6).

TABELA 6. Composição das dietas oferecidas em ingredientes e das dietas consumidas em nutrientes nos tratamentos DUAA (Milho duro e amido alto), DUAB (Milho duro e amido baixo), DEAA (Milho dentado e amido alto), DEAB (Milho dentado e amido baixo).

	DUAA	DUAB	DEAA	DEAB
	% da matéria seca			
Silagem de milho	34,2	33,9	33,8	33,7
Feno de Tifton	15,7	15,6	15,5	15,6
Milho duro ensilado	17,2	8,5		
Milho dentado ensilado			18,3	9,0
Polpa cítrica	16,4	25,7	16,1	25,6
Farelo de soja	13,7	13,6	13,5	13,4
Uréia	0,8	0,8	0,8	0,8
Bicarbonato de sódio	0,8	0,8	0,8	0,8
Mineral [1]	0,3	0,3	0,3	0,3
Calcário calcítico	0,4	0,4	0,4	0,4
NaCl	0,3	0,3	0,3	0,3
	% da matéria natural			
Matéria seca	46,1	47,7	47,3	48,2
	% da matéria seca			
Proteína bruta	15,4	15,0	15,3	15,3
FDN [2] de Tifton	11,5	10,3	11,3	10,9
FDN de silagem de milho	16,2	15,7	15,7	15,2
FDN de forragem	27,7	26,0	27,0	26,1
FDN total	32,9	34,7	32,8	34,7
Cinzas	6,0	6,3	6,0	6,4
Extrato etéreo	2,9	2,7	2,8	2,6
Carboidratos não fibrosos [3]	42,8	41,2	43,2	41,0

[1] Mineral: 18,5% de Ca; 15% de P; 3,0% de Mg; 3,0% de S; 240 ppm de Co; 3000 ppm de Cu; 8000 ppm de Mn; 12000 ppm de Zn; 90 ppm de Se; 180 ppm de I
[2] FDN: Fibra em detergente neutro
[3] Carboidratos não fibrosos: 100 – (Proteína bruta + FDN + Cinzas + Extrato etéreo)

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, às 5:00h e às 16:00h. Nos dias 17, 18 e 19 de cada período o leite foi pesado e uma amostra de 80 ml de cada ordenha foi coletada para determinação dos teores de sólidos e uréia (Clínica do Leite, Piracicaba, SP). A secreção diária de energia no leite foi calculada pela seguinte equação: [(0,0929 x % gordura) + (0,0547 x % de proteína) + (0,0395 x % de lactose)] x kg de leite (NRC, 2001). As medidas de eficiência alimentar foram calculadas. A eficiência alimentar foi estimada pela relação entre a produção diária de leite e o CMS. A eficiência na utilização energética foi estimada pelas relações entre a secreção diária de energia no leite e o CMS e o consumo de matéria orgânica digestível (CMOD). Nos dias 17 a 19 de cada período o peso vivo dos animais foi determinado. No dia 21 de cada período a condição corporal (1 a 5, magra a gorda) foi avaliada visualmente por dois avaliadores independentes e a média foi utilizada como escore de cada animal (Wildman et al., 1982).

A digestibilidade aparente no trato digestivo total da matéria seca, da matéria orgânica, da fibra em detergente neutro e da matéria orgânica não-FDN foi determinada por coleta total de fezes realizada por 8 horas ininterruptas nos dias 17 a 19 de cada período. A coleta de fezes em cada dia foi iniciada com 8 horas de atraso com relação ao dia anterior, visando obter uma amostragem representativa das 24 horas do dia sem causar distúrbio no consumo de alimentos e na produção de leite dos animais. As fezes foram continuamente congeladas durante o período de coleta e uma amostra composta foi formada para cada vaca em cada período. As amostras compostas de fezes foram desidratadas e os conteúdos de FDN e cinzas na matéria seca foram determinadas como anteriormente descrito para os alimentos. O CMOD foi calculado multiplicando o consumo de matéria orgânica mensurado entre os dias 15 a 20 de cada período pela digestibilidade da matéria orgânica mensurada entre os dias 17 a 19. O pH fecal foi determinado no início e no final de cada

período de 8 horas de coleta total de fezes, totalizando seis pontos ao longo de 24 horas. Um peso de 50 g de fezes foi diluído em 50 mL de água destilada e o pH da solução foi mensurado (Medidor de pH Digimed, Modelo DM20, Digimed Instrumentação Analítica Ltda., São Paulo, SP). O pH das fezes de cada vaca em cada período foi média das seis amostras fecais.

A concentração de derivados purínicos na urina foi mensurada para estimar a produção de proteína microbiana no rúmen. Uma amostra de urina foi coletada no início e no final de cada um dos três períodos de oito horas de coleta de fezes, perfazendo seis amostras por vaca em cada período experimental. Ao volume de urina coletada em cada amostragem foram imediatamente adicionadas 10% de uma solução de ácido sulfúrico a 10% e a amostra foi armazenada a 4ºC. Uma amostra composta foi formada para cada vaca no final de cada período. As amostras compostas foram diluídas com água destilada na proporção 1:3 (urina: água) e congeladas a -20ºC até a realização das análises de alantoína, ácido úrico e creatinina. Para a análise de alantoína o procedimento adotado foi semelhante ao sugerido por Chen & Gomes (1992). Para as análises de ácido úrico e creatinina foram utilizados kits de análise laboratorial (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Cat. 73-4/30 para ácido úrico e Cat. 35-100 para creatinina).

No dia 21 de cada período foram obtidas amostras de fluído ruminal para determinação do pH. A amostragem ocorreu 13,2 ± 0,1 horas (média ± desvio padrão) após a alimentação da manhã, permanecendo os animais com acesso normal ao alimento durante o período que antecedeu a coleta. A retirada do fluído ruminal foi realizada por aspiração percutânea do saco ventral do rúmen (Ruminocentese) (Garrett et al., 1999). Os animais foram amostrados aleatoriamente dentro de quadrado. O pH ruminal foi determinado imediatamente após a amostragem (Medidor de pH Digimed, Modelo DM20, Digimed Instrumentação Analítica Ltda., São Paulo, SP).

2.1 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas usando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1985) com o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + Q_i + V_{j(i)} + P_k + E_l + A_m + EA_{lm} + \varepsilon_{ijklm}$$

Onde:

μ = Média geral;

Q_i = Efeito de quadrado (i = 1 a 3);

$V_{j(i)}$ = Efeito de vaca dentro de quadrado (j = 1 a 12);

P_k = Efeito de período (k = 1 a 4);

E_l = Efeito de tipo de endosperma do milho (l = duro, dentado);

A_m = Efeito de teor de amido oriundo de milho ensilado (m = amido baixo, amido alto);

EA_{lm} = Interação entre tipo de endosperma e teor de amido;

ε_{ijklm}= erro residual assumido independente e identicamente distribuído em uma distribuição normal com média zero e variância σ^2.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Minimizar a inclusão de amido proveniente do concentrado em dietas de vacas leiteiras pode ser vantajoso, já que a utilização de milho para alimentação animal não apresenta qualquer tendência de ser uma opção financeira melhor que a utilização de subprodutos fibrosos da agroindústria (Carvalho, 2007). No entanto, um teor dietético mínimo de amido proveniente do concentrado parece ser necessário. A inclusão de 10% de milho de textura dura maduro e moído fino em dieta com alta inclusão de polpa de citros aumentou as produções de leite e proteína e o teor protéico do leite, comparativamente a uma dieta formulada exclusivamente com polpa cítrica como concentrado energético (Salvador et al., 2008b). Esse experimento avaliou a resposta à inclusão de dois teores dietéticos de amido oriundo de milho ensilado (TABELA 6), teoricamente mais fermentável no rúmen (Baron et al., 1986) que o milho utilizado por Salvador et al. (2008a). Operacionalmente, alimentar vacas com silagem de grão úmido pode apresentar vantagens relativamente ao uso de grão maduro moído, ligados à estocagem, transporte, beneficiamento do grão ao longo do ano e tempo entre o plantio e a colheita da planta.

Não foi detectado efeito do teor de amido de milho na dieta sobre a produção diária de leite (TABELA 7). Apesar da substituição de milho por polpa de citros ser capaz de atuar negativamente sobre a produção de leite (Leiva et al. 2000; Broderick et al., 2002; Larson, 2003; Salvador et al., 2008b), os resultados aqui obtidos evidenciam que, nesse tipo de formulação dietética (TABELA 7), a polpa cítrica resultou em produção diária similar ao milho ensilado. Entretanto, as dietas com maior teor de amido de milho melhoraram a eficiência alimentar definida pela relação entre o leite e o consumo (TABELA 7).

TABELA 7. Desempenho de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo).

	DUAA	DUAB	DEAA	DEAB	EPM[1]	Tex[2]	Am[2]	Int[2]
			kg d^{-1}					
Leite	27,5	28,3	29,3	28,3	0,68	0,19	0,91	0,18
CMS [3]	17,6	18,4	18,5	18,6	0,29	0,08	0,16	0,18
CMOD [3]	11,5	11,9	12,5	12,1	0,30	0,05	0,90	0,16
			Mcal d^{-1}					
Energia no leite	18,27	18,42	18,89	18,62	0,29	0,22	0,96	0,37
Eficiência 1 [4]	1,57	1,51	1,57	1,50	0,028	0,80	0,03	0,94
			Mcal kg^{-1}					
Eficiência 2 [4]	1,02	0,98	1,00	0,99	0,018	0,79	0,12	0,53
Eficiência 3 [4]	1,57	1,53	1,51	1,52	0,041	0,37	0,69	0,45
			kg					
Peso vivo	573	579	573	575	4,1	0,56	0,37	0,66
			1 a 5 (magra a gorda)					
C.C. [5]	2,79	2,78	2,78	2,84	0,029	0,55	0,51	0,43

[1] EPM = Erro padrão da média
[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Tex = textura do grão de milho; Am = Teor de amido na dieta e Int = Interação entre Tex e Am
[3] CMS = Consumo de matéria seca; CMOD = Consumo de matéria orgânica digestível
[4] Eficiência 1 = Leite/CMS. Eficiência 2 = Energia no leite/CMS. Eficiência 3 = Energia no leite/CMOD
[5] C.C. = Condição corporal

Logo, se o pagamento do leite ocorrer apenas por volume, a decisão sobre qual a dieta mais adequada financeiramente depende da diferença entre o valor do milho e o da polpa e o preço pago pelo leite, já que a dieta com maior inclusão de milho, de maior custo por unidade de matéria seca, resultou em mais leite por unidade de consumo.

A alta inclusão de amido, mesmo não afetando a secreção diária de leite, induziu aumento no teor de proteína de 2,99 para 3,03 e redução no teor de gordura de 3,38 para 3,26 (TABELA 8).

O aumento no teor de gordura induzido pela maior substituição de milho por polpa, em unidades percentuais, foi três vezes superior à queda induzida por esta substituição sobre o teor de proteína. O aumento de apenas duas unidades percentuais no FDN dietético, quando carboidratos do milho foram substituídos pelos da polpa em uma dieta com 32,9% de FDN total (TABELA 6), foi capaz de induzir resposta em teor de sólidos. Em sistemas de pagamento do leite por qualidade, onde a remuneração por proteína é alta, comparativamente à remuneração por gordura, o maior custo das dietas com maior inclusão de milho pode ser compensado pelo maior valor da produção vendida. Entretanto, dietas com alta inclusão de polpa cítrica podem ser interessantes quando existe pagamento do leite com ênfase em teor de gordura.

TABELA 8. Produção e teor de sólidos no leite de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo).

	DUAA	DUAB	DEAA	DEAB	EPM[1]	Tex[2]	Am[2]	Int[2]
			kg d^{-1}					
Gordura	0,901	0,944	0,934	0,957	0,020	0,26	0,13	0,63
Proteína	0,834	0,840	0,887	0,843	0,020	0,17	0,37	0,23
			%					
Gordura	3,29	3,34	3,22	3,42	0,058	0,99	0,04	0,19
Proteína	3,03	3,00	3,04	3,01	0,019	0,34	0,05	0,56
			mg dl^{-1}					
Uréia no leite	15,1	15,0	15,6	15,3	0,38	0,28	0,62	0,87

[1] EPM = Erro padrão da média
[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Tex = textura do grão de milho; Am = Teor de amido na dieta e Int = Interação entre Tex e Am

A substituição de milho de textura dura por milho de textura macia não teve efeito sobre o teor de sólidos do leite (TABELA 8). Entretanto, a silagem de grão dentado induziu aumento numérico na produção diária de leite de 27,9 para 28,8 kg e na de proteína de 0,837 para 0,865 kg. Apesar do experimento não ter sido capaz de suportar estatisticamente estas diferenças no desempenho animal, outros indicadores sugerem que milho dentado ensilado foi mais digerido que milho com textura dura do endosperma. O CMOD, um indicador da ingestão diária de energia por vaca, foi maior com grão dentado (TABELA 7). Também houve tendência de maior digestibilidade aparente da matéria orgânica não fibrosa nas dietas com grão dentado (TABELA 9), representativo da diferença na digestibilidade do amido entre estas dietas isonutricionais e formuladas com os mesmos ingredientes. Aumento na inclusão dietética de amido oriundo do grão ensilado também induziu maior queda no pH ruminal na dieta com milho dentado do que na dieta com milho duro (TABELA 9).

TABELA 9. Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total e pH ruminal e fecal de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo).

	DUAA	DUAB	DEAA	DEAB	EPM[1]	Tex[2]	Am[2]	Int[2]
	% do consumido							
MS [3]	67,9	67,8	69,5	67,9	1,22	0,50	0,49	0,55
MO [3]	70,0	69,8	72,1	70,3	1,15	0,25	0,38	0,49
FDN [3]	46,1	49,8	48,9	49,1	2,18	0,62	0,38	0,42
MOnFDN[3]	83,1	81,7	84,4	82,7	0,66	0,10	0,03	0,80
ph ruminal	6,04	6,07	5,86	6,22	0,087	0,85	0,04	0,06
pH fecal	6,77	6,75	6,77	6,77	0,02	0,66	0,60	0,41

[1] EPM = Erro padrão da média
[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Tex = textura do grão de milho; Am = Teor de amido na dieta e Int = Interação entre Tex e Am
[3] MS = Matéria seca; MO = Matéria orgânica; FDN = Fibra em detergente neutro; MOnFDN = Matéria orgânica não-FDN

A ensilagem do grão de textura dura, uma maneira de induzir degradação da matriz protéica circundando os grânulos de amido do endosperma (Baron et al., 1986; McAllistter et al., 1993), parece não ter resultado em digestibilidade deste grão similar à do híbrido dentado.

A digestão pós ruminal do amido não digerido no rúmen poderia minimizar diferenças entre dietas na digestibilidade mensurada no trato digestivo total (Knowlton et al., 1998). Não obstante, a atuação sobre a textura do grão e o teor de amido da dieta não foram capazes de induzir alteração no pH fecal (TABELA 9). A se julgar por esta variável, um indicador indireto de fermentação no intestino grosso, parece que eventos ruminais ou duodenais foram responsáveis pela diferença na digestibilidade da matéria orgânica não fibrosa entre as dietas variando em perfil de carboidratos. O aumento no teor dietético de polpa cítrica aparentemente reduziu a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos (TABELA 9). Este resultado sugere que o amido do milho ensilado foi de maior digestibilidade que a pectina e a sacarose da polpa cítrica. Fica o questionamento se o determinante desta diferença foi a menor fermentabilidade da pectina e da sacarose no rúmen, comparativamente ao amido do milho, algo pouco provável (Marounek et al., 1985; Hall et al., 1998; Miron et al. 2001), mas suportado pelo maior pH ruminal nas dietas com baixo amido (TABELA 9), ou se a alta passagem de carboidratos da polpa cítrica para o duodeno limitou sua digestão (Weidner & Grant, 1994; Bhatti & Firkins, 1995), pela ausência de enzimas oriundas de sistemas anaeróbicos microbianos nesta porção do trato digestivo (Van Soest, 1994).

Não foi observada resposta aos tratamentos em teor de uréia no leite (TABELA 9). Broderick et al. (2002), também, não observaram efeitos sobre o teor de uréia no leite, quando 19% da matéria seca dietética de milho úmido ensilado, foi substituído por polpa cítrica. Teoricamente, a menor eficiência de síntese de proteína microbiana, quando pectina e sacarose substituem amido

(Hall & Herejk, 2001; Sannes et al., 2002), poderia aumentar a excreção de uréia no leite nos tratamentos com maior teor de polpa cítrica. Resposta similar em uréia do leite também seria plausível à substituição de milho de textura dentada por milho duro, em decorrência da menor fermentabilidade do último no rúmen (Corrêa et al., 2002). Atuação sobre a textura do milho ensilado ou sobre o teor dietético de amido, nestas dietas contendo polpa cítrica, não alteraram a perda de nitrogênio pelo leite. Estes dados não suportam a hipótese de que atuação sobre o amido dietético, em formulações com alto conteúdo de polpa cítrica, seria uma rota para lidar com possíveis efeitos negativos da excessiva perda ruminal de amônia sobre a reprodução de vacas leiteiras (Butler, 1998) e nem com questões ambientais relacionadas à perda excessiva de nitrogênio por ruminantes.

A eficiência de utilização energética não foi alterada pelos tratamentos (TABELA 7). Assumindo que o incremento calórico, oriundo do metabolismo ruminal ou do metabolismo intermediário de ruminantes, varia pouco dentro da amplitude fisiológica na relação entre os ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen (Orskov et al., 1979), e que a perda urinária de energia não estaria variando nestes tratamentos isonutricionais (Blaxter et al., 1966), a relação entre a secreção diária de energia no leite e o CMOD seria uma medida indireta de metano excretado por dia. Estes dados sugerem, que a substituição de milho por polpa cítrica, teoricamente capaz de aumentar a proporção de acetato dentre os produtos da fermentação ruminal (Vijchulata et al., 1980; Ben-Ghedalia et al., 1989; Rocha Filho et al., 1999; Leiva et al., 2000; Ariza et al., 2001; Broderick et al., 2002; Salvador et al., 2008a), não teve magnitude suficiente para alterar a eficiência de utilização energética nestes animais.

Não houve efeito dos tratamentos sobre a relação entre a concentração de derivados purínicos na urina e a concentração urinária de creatinina (TABELA 10), sugerindo que os tratamentos não afetaram a síntese de proteína microbiana no rúmen (Chen & Gomes, 1992).

TABELA 10. Concentração de Ácido Úrico (Au), Alantoína (Ala) e Creatinina (Crea) na urina de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo).

	DUAA	DUAB	DEAA	DEAB	EPM[1]	Tex[2]	Am[2]	Int[2]
			mM					
Au	0,95	1,01	1,12	1,05	0,08	0,20	0,94	0,43
Ala	16,15	15,06	15,43	13,42	0,90	0,20	0,09	0,61
Crea	5,06	3,91	4,11	3,68	0,34	0,10	0,03	0,30
Ala/Crea	3,32	4,48	3,93	3,90	0,50	0,98	0,27	0,24
(Au+Ala)/Crea	3,52	4,77	4,22	4,27	0,53	0,85	0,23	0,26

[1] EPM = Erro padrão da média
[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Tex = textura do grão de milho; Am = Teor de amido na dieta e Int = Interação entre Tex e Am

O uso da relação entre a concentração de derivados purínicos na urina e a concentração urinária de creatinina para quantificar a síntese microbiana, em amostras de urina coletadas em pontos isolados do dia, assume que a excreção diária de creatinina é constante e uma função da massa corporal do animal. Entretanto, a maior inclusão dietética de milho úmido ensilado aumentou em 4% a excreção diária de creatinina por vacas leiteiras (Vagnoni & Broderick, 1997). A concentração de creatinina na urina de vacas em lactação também aumentou com a suplementação de milho seco e milho úmido ensilado em relação ao controle consumindo apenas forragem (Reis et al., 2001). O aumento do teor de proteína na dieta aumentou a excreção diária de creatinina na urina de vacas em lactação (Moscardini et al., 1998). A excreção diária de creatinina em ovelhas foi maior quando a dieta continha alta proteína e alta energia; intermediária em dieta de alta proteína e baixa energia ou baixa proteína e alta energia, e foi menor na dieta de baixa proteína e baixa energia (Liu & McMenimam, 2006).

Assumir que a excreção diária de creatinina é uma constante relativamente à massa muscular pode não ser correto. Estratégias alimentares

capazes de aumentar o fluxo de aminoácidos metabolizáveis, seja de origem dietética ou microbiana, têm mostrado ser capazes de alterar a excreção diária de creatinina pela urina. A síntese de creatinina envolve a participação de três aminoácidos, glicina, arginina e metionina (Swenson & Reece, 1993), os dois últimos são essenciais para ruminantes. Assumindo que tanto a concentração urinária de alantoína quanto a de creatinina responderiam ao maior fluxo de proteína microbiana do rúmen, a maior síntese protéica ocorreu nas dietas com maior inclusão de milho em substituição à polpa cítrica (TABELA 10). Coerente ao maior potencial de síntese de proteína microbiana do amido relativamente à pectina e à sacarose da polpa cítrica (Hall & Herejk, 2001) e à resposta induzida por esta substituição sobre o teor de proteína do leite neste experimento (TABELA 8).

4 CONCLUSÕES

Milho de textura macia do endosperma colhido e ensilado no estádio de maturação de linha negra resultou em maior consumo diário de energia por vaca. Entretanto, resposta positiva em desempenho animal à atuação sobre a textura do grão de milho ensilado não pôde ser comprovada experimentalmente.

A maior inclusão dietética de polpa cítrica, em substituição parcial ao milho ensilado, reduziu o teor de proteína do leite, aumentou o teor de gordura e não teve efeito sobre a produção diária de leite. Dietas com maior teor de polpa cítrica também tiveram menor relação entre o leite produzido e o alimento consumido. Sistemas de pagamento que valorizam o teor de proteína do leite favoreceriam as dietas com maior teor de amido, enquanto que sistemas com maior ênfase em gordura ou que não valorizam sólidos, favoreceriam a maior inclusão dietética de polpa cítrica.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 12. ed. Washington, D.C., 1975. v. 1, 1094 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 13. ed. Washington, D.C., 1980. v. 1.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CITRUS**.** **Resíduos de polpa citrus**. Disponível em: <http: //www.abecitrus.com.br/>. Acesso em: 02 jan. 2008.

ARIZA, P.; BACH, A.; STERN, M. D.; HALL, M. B. Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, n. 10, p. 2713-2718, Oct. 2001.

BARON, V. S.; STEVENSON, K. R; BUCHANAN-SMITH, J. G. Proteolysis and fermentation of corn grain ensiled at several moisture levels and under several simulated storage methods. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v .66, n. 2, p. 451-461, June 1986.

BEN-GHEDALIA, D.; YOSEF, E.; MIRON J.; EST, Y. The effects of starch and pectin rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdan, v. 24, n. 3/4, p. 289-298, July 1989.

BHATTI, S. A.; FIRKINS, J. L. Kinetics of hydration and functional specific gravity of fibrous feed by-products. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 5, p. 1449-1458, May 1995.

BLAXTER, K. L.; CLAPPERTON, J. L.; MARTIN, A. K. The heat of combustion of urine of sheep and cattle in relation to its chemical composition and diet. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 20, n. 3, p. 449-460, 1966.

BRODERICK, G. A.; MERTENS, D. R.; SIMONS, R. Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 7, p. 1767-1776, July 2002.

BUTLER, W. R. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 9, p. 2533-2539, Sept. 1998.

CARVALHO, G. Os efeitos do etanol e biodiesel nos preços dos insumos para alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE**,** 8., 2007, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: PMU, 2007. p. 103-122.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-an overview of technical details. Aberdeen: International Feed Research Unit/ Rowett Research Institute, 1992. 21 p. (Occasional publication).

CORREA, C. E. S.; SHAVER, R. D.; PEREIRA, M. N.; LAUER, J. G.; KOHN, K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 85, n. 11, p. 3008-3012, Nov. 2002.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A.; BIETZ, J. A. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 70, n. 1, p. 105-108, Jan./Feb. 1993.

GALYEAN, M. L., WAGNER, D. G., OWENS, F. Dry matter and starch disappearence of corn and sorghum as influenced by particle size and processing. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, n. 9, p. 1804-1812, Sept. 1981.

GARRET, E. F.; PEREIRA, M. N.; NORDLUND, K. V.; ARMENTANO, L. E.; GOODER, W. J.; OETZEL, G. Diagnostic methods for detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 6, p. 1176-1178, June 1999.

HALL, M. B.; HEREJK, C. Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. p. 2486-2493, 2001.

HALL, M. B.; PELL, A. N.; CHASE, L. E. Characteristics of neutral detergent-soluble fiber fermentation by mixed ruminal microbes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 70, n. 1-2, p. 23-39, Jan. 1998.

INSTITUTE SAS. **User's guide:** Statistic 5 ed. Cary, 1985, 1290 p

KNOWLTON, K. F., GLENN, B. P., ERDMAN, R. A. Effect of corn grain maturity and processing on performance, rumen fermentation, and site of starch digestion in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 79, n. 1, p. 138, Aug. 1996. Suppl.

KNOWLTON, K. F.; GLENN, B. P.; ERDMAN, R. A. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 7, p. 1972- 1984, July 1998.

LARSON, C. C. **The effects of nonfiber carbohydrate source and protein degradability on lactation performance of Holstein cows**. Thesis. Master of Science. University of Florida, Gainesville, 2003, 108p.

LEIVA, E.; HALL, M.B.; VAN HORN, H.H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 12, p. 2866-2875, Dec. 2000.

LIU, Z. J.; McMENIMAN, N. P. Effect of nutrition level and diets on creatinine excretion by sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 63, n. 3, p. 265-273, June 2006.

MAROUNEK, M.; BARTOS, S.; BREZINA, P. Factors influencing the production of volatile fatty acids from hemicellulose, pectin and starch by mixed culture of rumen microorganisms. **Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierenährung and Futtermittelkunde,** Hamburg, v. 53, n. 1/2, p. 50-58, 1985.

MAROUNEK, M.; DUSKOVÁ, D. Metabolism of pectin in rumen bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* and *Prevotella ruminicola*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 159-163, Aug. 1999.

McALLISTER, T. A.; PHILLIPE, R. C.; RODE, L. M.; CHENG, K. J. Effect of protein matrix on the digestion of cereal grains by microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 1, p. 205-212, Jan. 1993.

MIRON, J.; YOSEF, E.; BEN-GHEDALIA, D. Composition and in vitro digestibility of monosaccharide constituents of selected byproducts feeds. **Journal of Agricultural of Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 5, p. 2322-2326, May 2001.

MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T. C.; LUIMES, P. H.; McBRIDE, B. W.; SUSMEL, P. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n.7, p. 2421-2329, July 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 6th ed. Washington: National Academy of Sciences, 1989. 311 p.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 1, p. 184-194, Jan. 2003.

ORSKOV, E. R.; GRUBB, D. A.; SMITH, J. S.; WEBSTER, A. J. F.; CORRIGALL W. Efficiency of utilization of volatile fatty acids for maintenance and energy retention in sheep. **British Journal of Nutrition,** Wallingford, v. 41, n. 3, p. 541-553, 1979.

PEREIRA, E. M.; SANTOS, F. A. P.; NUSSIO, L. G.; PEDROSO, A. M.; COSTA, D. F. A.; IMAIZUMI, H.; BITTAR, C. M. M. Estimativa de energia metabolizável de rações com polpa cítrica em substituição ao milho para tourinhos em terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 1, p. 216-224, jan./fev.2007.

PEREIRA, M. N.; VON PINHO, R. G., BRUNO, R. G. S.; CALESTINE, G. A. Ruminal degradation of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, p. 353-467, 2004.

PHILIPPEAU, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of genotype and ensiling of corn grain on in situ degradation of starch in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 2178-2184, 1998.

PHILIPPEAU, C.; LE DESCHAULT DE MONREDON, F.; MICHALET-DOREAU, B. Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 1, p. 238-243, Jan. 1999.

REIS, R. B.; SAN EMETERIO, F.; COMBS, D. K.; SATTER, L. D.; COSTA, H. N. Effect of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 2, p. 429-441, Feb. 2001.

ROCHA FILHO, R. R.; MACHADO, P. F.; D'ARCE, R. D.; FRANCISCO JÚNIOR, J. C. Citrus and corn pulp related to rúmen volatile fatty acids. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 471-477, abr./jun. 1999.

SALVADOR, C. S.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; MELO, L. Q.; CHAVEZ, M. L. Resposta de vacas leiteiras à substituição total do milho por polpa cítrica e à suplementação com minerais orgânicos I: consumo e digestão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** 2008a. No prelo.

SALVADOR, C. S.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; MELO, L. Q.; CHAVEZ, M.L. Resposta de vacas leiteiras à substituição total do milho por polpa cítrica e à suplementação com minerais orgânicos II: desempenho e economia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2008b. No prelo.

SANNES, R. A.; MESSMAN, M. A.; VAGNONI, D. B. Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 4, p. 900-908, Apr. 2002.

SHAVER, R.D. Impact of vitreousness, processing, and chop length on the utilization of corn silage by dairy cows. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 14., 2003, Gainsville. **Proceedings…** Gainesville: University of Florida, 2003.

SOLOMON, R.; CHASE, L. E.; BEN-GHEDALIA, D.; BAUMAN, D. E. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugates linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 83, n. 6, p. 1322-1329, June 2000.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes Physiology of Domestic Animals.** 11th ed. Ithaca: Cornell University, 1993. 962 p.

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A. Effects of supplementation of energy or ruminally undegraded protein to lactating cows fed alfalfa hay or silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 8, p. 1703-1712, Aug. 1997.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, Oct. 1991.

VIJCHULATA, P.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B.; POTTER, S. G.; PALMER,A. Z.; BECKER,H. N. Effect of dried citrus pulp and cage layer manure in combination with monensin on performance and tissue mineral composition in finishing steers. **Journal of Animal Science**, Indianapolis, v. 50, p. 1022-1030, 1980.

WEIDNER, S. J.; GRANT, R. J. Altered ruminal mat consistency by high percentages of soybean hulls fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 77, n. 2, p. 522-532, Feb. 1994.

WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E.; BOMAN, R. L.; TROUTT JUNIOR, H. F.; LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, n. 3, p. 495-501, Mar. 1982.

WILKERSON, V. A.; GLENN, B. P.; MCLEOD, K. R. Energy and nitrogen balance in lactating cows fed diets containing dry or high moisture corn in either rolled or ground form. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 10, p. 2487-2496, Oct. 1997.

CAPÍTULO III

RESPOSTA DE VACAS EM LACTAÇÃO À SUPLEMENTAÇÃO COM METIONINA HIDROXI-ANÁLOGO EM DIETAS COM SUBSTITUIÇÃO TOTAL DE MILHO POR POLPA CÍTRICA

Flávio Marcos Junqueira Costa[1]; Marcos Neves Pereira[2]; Renata Spuri[3]; Gilson Sebastião Dias Júnior[3] e José Ricardo Martins da Silva[1].

[1] Doutorando em Produção Animal – DZO – UFLA
[2] Profº. Associado – DZO – UFLA
[3] Graduando em Medicina Veterinária – DMV – UFLA

RESUMO

COSTA, Flávio Marcos Junqueira. Resposta de vacas em lactação à suplementação com metionina hidroxi-análogo em dietas com substituição total de milho por polpa cítrica**.** In:_____. **Resposta de vacas leiteiras alimentadas com polpa cítrica em substituição ao milho, à suplementação com metionina e à ensilagem de grãos de milho duro ou dentado.** Cap. 2, p. 87-118, 2008. 122 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras,MG.

A suplementação com fontes de metionina pode aumentar a produção e/ou o teor de proteína do leite. A resposta de vacas em lactação à suplementação com metionina onde o milho do concentrado foi totalmente substituído por polpa de citros foi avaliada. Vinte vacas Holandesas, com 165 ± 111 dias em lactação no início do período experimental, foram blocadas em cinco grupos de quatro animais com base na produção de leite e aleatoriamente alocadas a uma de quatro possíveis seqüências de quatro tratamentos em cinco quadrados latinos 4x4, com períodos de 25 dias. Um arranjo fatorial 2x2 de dois fatores definiu os quatro tratamentos: Substituição total ou não do milho do concentrado por polpa cítrica com ou sem a suplementação com metionina hidroxi-análogo (Alimet®, Novus do Brasil, Porto Alegre, RS), cuja inclusão foi de 20 gramas por dia. O teor de proteína bruta na dieta foi de 17% da MS, o teor de FDN na dieta com milho foi de 31,9 % da MS nas dietas com milho e 34,7% da MS na dieta com polpa cítrica. As inclusões de milho e polpa cítrica foram 24,7 e 25,4% da MS, respectivamente. Outros ingredientes em % da MS foram: silagem de milho 47,5 , caroço de algodão 10,5 e farelo de soja 13,8 na dieta de milho e 14,5 na dieta de polpa. A substituição de milho por polpa cítrica diminui o consumo de MS (21,3 vs. 20,4 kg, P<0,01), a secreção de proteína do leite (0,857 vs. 0,826 kg, P=0,05), o teor de proteína (3,03 vs. 2,97 %, P<0,01) e de lactose (4,64 vs. 4,55 %, P<0,01). A dieta de polpa cítrica tendeu a ser mais eficiente na conversão de consumo em leite (1,34 vs. 1,38 P=0,06). A inclusão de metionina hidroxi análogo tendeu a aumentar a concentração de creatinina na urina (5,69 vs. 6,44 mM, P=0,06), porém não contrabalançou o efeito negativo da substituição total de milho por polpa cítrica sobre a secreção diária de proteína no leite.

ABSTRACT

COSTA, Flávio Marcos Junqueira. Performance of dairy cows to supplementation with methionine hydroxy-analog in diets where corn was totally replaced by citrus pulp **.** In:_____. **Resposta de vacas leiteiras alimentadas com polpa cítrica em substituição ao milho, à suplementação com metionina e à ensilagem de grãos de milho duro ou dentado.** Cap. 2, p. 87-118, 2008. 122 p., Thesis (Doctor in Animal Science Program) –Federal University of Lavras, Lavras, MG.

Feeding sources of methionine may increase the production or content of milk protein. The performance of dairy cows to supplementation with methionine in diets where cor was totally replaced by citrus pulp was evaluated.Twenty Holstein cows with 165 ± 111 days in milk received a sequence of the four treatments in five, 25-day period, 4x4 Latin Squares. A 2x2 factorial design defined the four treatments: replacing all the corn of concentrate by pelleted citrus pulp with or without the inclusion of methionine hydroxy-analog (Alimet®, Novus do Brasil, Porto Alegre, RS), fed at 20 grams per day. The diets contained 17.0% crude protein , 31.9 NDF in corn diets and 34.7 % NDF in citrus pulp diets. The inclusion of corn was 24.7% DM and citrus pulp 25.4% DM. Other ingredients as a % of DM were: corn silage 47.5 , whole cottonseed 10.5. Soybean meal was 13.8 % DM in the corn diet and 14.5 in the citrus diet. Replacing corn by pelleted citrus pulp decreased dry matter intake (21.3 *vs*. 20.4 kg, $P<0.01$), the secretion of milk protein (0.857 *vs*. 0.826 kg, $P=0.05$), the protein content (3.03 *vs*. 2.97 %, $P<0.01$) and milk lactose content (4.64 *vs*. 4.55 %, $P<0.01$). The citrus pulp diet was more efficient in the conversion of intake in milk (1.34 *vs*. 1.38 $P=0.06$). Feeding de methionine hydroxy-analog tended to increase the concentration of urine creatinine (5.69 *vs*. 6.44 mM, $P=0.06$), although it wasn't able to balance the negative effect of the total replacement of corn by pelleted citrus pulp in the daily milk protein secretion.

1 INTRODUÇÃO

O milho é o mais importante concentrado energético para produção animal no Brasil, entretanto, o aumento internacional da sua utilização para produção de biocombustíveis, elevou o valor deste cereal (Carvalho, 2007). Conseqüentemente, a substituição de milho por subprodutos fibrosos da agroindústria pode ser uma alternativa para redução do custo alimentar em ruminantes, sem competir por substrato com animais possuindo sistemas enzimáticos predominantemente aeróbicos, incapazes de digerir carboidratos fibrosos e a pectina contida nestes alimentos (Van Soest, 1994).

A polpa cítrica é rica em carboidratos fibrosos e em pectina e sacarose de alta digestibilidade (Miron et al., 2001). Na região Sudeste do Brasil, o uso de polpa de citros em substituição ao milho é uma alternativa para formular dietas para vacas em lactação, já que o país é o maior produtor mundial deste subproduto e essa região concentra mais de 95% da produção nacional do alimento (Abecitrus, 2008). Entretanto, o metabolismo microbiano da pectina gera menos ATP por unidade de glicose fermentada que o do amido (Marounek & Dusková, 1999; Dusková & Marounek, 2001; Hall & Herejk, 2001). Este fato pode explicar parte da resposta negativa em produção e/ou teor de proteína no leite quando polpa cítrica substitui milho na dieta de vacas leiteiras de alta produção (Leiva et al., 2000; Solomon et al., 2000; Broderick et al., 2002; Larson, 2003; Gheman et al., 2006; Salvador et al., 2008b).

Estratégias capazes de aumentar o aporte de aminoácidos metabolizáveis para o animal são de interesse recente no Brasil, já que compradores de leite introduziram sistemas de pagamento de leite por qualidade, com ênfase em proteína, no ano de 2005 (DPA, 2005). A suplementação com fontes de proteína não degradável no rúmen contendo aminoácidos limitantes à produção de leite,

como farinhas de origem animal, seria uma alternativa para induzir aumento na secreção diária de proteína por vacas em lactação. Entretanto, como medida sanitária preventiva à ocorrência da Encefalopatia Espongiforme Bovina, "Doença da Vaca Louca", a alimentação de ruminantes com todas as farinhas de origem animal foi proibida no país (Brasil, 2004). A suplementação com metionina hidroxi-análogo pode ser uma estratégia para aumentar o fluxo de metionina metabolizável em ruminantes (Koenig et al., 1999).

Devido às práticas entre a colheita e o armazenamento dos grãos, a indústria brasileira de sementes de milho optou por híbridos do tipo duro, com textura dura do endosperma. Grãos duros, de alta vitreosidade, têm endosperma rico em matriz protéica, que limita a degradabilidade do amido no rúmen (McAllister et al., 1993; Philippeau et al., 1999). A queda na degradabilidade ruminal com o avançar do estádio de maturação da planta é maior em híbridos do tipo duro, comparativamente a híbridos de endosperma dentado (Shaver, 2003; Pereira et al., 2004). Portanto, o efeito da textura do grão sobre a fermentabilidade do amido no rúmen tende a ser mais marcado quando os grãos se aproximam ao estádio de maturação no qual é confecionada a silagem de grão úmido.

O uso de híbridos de milho capazes de reduzir a disponibilidade do amido no rúmen e a substituição de amido por carboidratos da polpa cítrica podem reduzir o fluxo ruminal de proteína microbiana e a secreção láctea de proteína. A suplementação com fontes de metionina ou análogos químicos do aminoácido, com baixa degradabilidade ruminal, pode aumentar a produção e/ou o teor de proteína do leite (Armentano et al., 1997; St-Pierre & Sylvester, 2005; Rulquin et al., 2006).

O objetivo deste experimento foi avaliar a resposta de vacas em lactação à suplementação com metionina na forma do precursor ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutírico (MHA), em dietas, nas quais, o milho com textura dura do

endosperma, maduro e finamente moído, foi totalmente substituído por polpa de citros.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Vinte vacas Holandesas, dezesseis multíparas e quatro primíparas, com 165 ± 111 dias em lactação no início do período experimental (média ± desvio padrão), foram individualmente alimentadas em confinamento total. As vinte vacas foram blocadas em cinco grupos de quatro animais com base na produção de leite imediatamente anterior ao início do período experimental e aleatoriamente alocadas a uma de quatro possíveis seqüências de quatro tratamentos em cinco quadrados latinos 4x4, com períodos de 25 dias. Os cinco quadrados foram conduzidos simultaneamente e a seqüência de aplicação dos tratamentos objetivou balanceamento para efeito residual.

Um arranjo fatorial 2x2 de dois fatores definiu os quatro tratamentos: Substituição total ou não do milho do concentrado por polpa cítrica com ou sem a suplementação com metionina hidroxi análogo (MHA, 88% de ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutírico em forma líquida, Alimet®, Novus do Brasil, Porto Alegre, RS). Vinte gramas de MHA foram pré-misturadas a 980 gramas de outros ingredientes antes da mistura à dieta completa. O híbrido de milho utilizado foi de alta vitreosidade do endosperma (Novartis Tork, Sementes Syngenta, Uberlândia, MG).

Os ingredientes dietéticos foram pesados e misturados manualmente duas vezes ao dia para fornecimento às 7:00 e às 16:00 horas, na forma de Dieta Completa, em quantidade suficiente para propiciar 15% do oferecido como sobra diária. A proporção de ingredientes na matéria seca dietética foi mantida constante por monitoramento semanal da porcentagem de matéria seca da silagem de milho por destilação em tolueno. A sobra alimentar de cada animal foi pesada diariamente antes da alimentação da manhã. Nos dias 21 a 25 de cada período, as sobras foram amostradas, congeladas e uma amostra composta foi formada por vaca e por período, por união de quantidades idênticas de matéria

natural das sobras diárias. Nos dias 20 a 24, também foram coletadas amostras diárias da silagem de milho e dos alimentos concentrados; uma amostra composta foi formada para cada alimento por período.

As amostras compostas por período de sobras por vaca e dos alimentos foram desidratados em estufa ventilada por 72 horas a 55°C e moídas em moinho tipo Thomas-Wiley, com peneira de 1 mm. Uma sub-amostra foi levada à estufa de 105°C por 24 horas, para determinação do teor de matéria seca. A proteína bruta foi determinada por aparelho de destilação a vapor Microkjeldahll (AOAC, 1975). O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração a 550°C por 8 horas. O conteúdo de FDN foi determinado através do método ANKON® Fiber Analyser (ANKON Technology Corporation, Fairport, EUA). O extrato etéreo foi determinado segundo o AOAC (1980).

O consumo diário de matéria seca (CMS) foi calculado multiplicando o consumo diário de matéria natural de cada alimento, entre os dias 20 a 24 de cada período, por seu respectivo teor de matéria seca, seguido de subtração da sobra diária de matéria seca. A ingestão diária de nutrientes por animal foi calculada multiplicando o oferecido de matéria seca de cada ingrediente por seu respectivo teor nutritivo; do total de nutrientes oferecidos foi subtraído a massa diária do mesmo nutriente na sobra de cada animal. A composição em nutrientes da dieta consumida foi igual à ingestão total de nutrientes das vinte vacas por tratamento ao longo de todo o período experimental, dividido pelo total de consumo de matéria seca destes animais no mesmo período (TABELA 11).

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia às 5:00 e às 16:00. Nos dias 21, 22 e 23 de cada período o leite foi pesado e uma amostra de 80 ml de cada ordenha foi coletada para determinação de proteína, gordura, lactose e uréia (Clínica do Leite, Piracicaba, SP). A secreção diária de energia no leite foi calculada pela seguinte equação: [(0,0929 x % gordura) + (0,0547 x % de proteína) + (0,0395 x % de lactose)] x kg de leite (NRC, 2001). Três medidas de

eficiência alimentar foram calculadas: Dividindo a produção de leite pelo CMS, a secreção diária de energia pelo CMS e a secreção diária de energia pelo CMOD. Nos dias 23 a 25 de cada período o peso vivo dos animais foi determinado. No dia 25 de cada período a condição corporal (1 a 5, magra a gorda) foi avaliada visualmente por dois avaliadores independentes e a média foi utilizada como escore de cada animal (Wildman et al., 1982).

TABELA 11. Composição das dietas oferecidas em ingredientes e das dietas consumidas em nutrientes nos tratamentos Milho, Milho com metionina (MilhoM), Polpa e Polpa com metionina (PolpaM).

	MilhoM	Milho	PolpaM	Polpa
	% da matéria seca			
Silagem de milho	47,9	47,9	47,5	47,5
Caroço de algodão	10,6	10,6	10,5	10,5
Milho maduro moído fino	24,7	24,7		
Polpa cítrica			25,4	25,4
Farelo de soja	13,8	13,8	14,5	14,5
Uréia	0,4	0,4	0,4	0,4
Bicarbonato de sódio	0,8	0,8	0,8	0,8
Mineral [1]	0,3	0,3	0,3	0,3
Calcário calcítico	1,2	1,2	0,4	0,4
NaCl	0,3	0,3	0,3	0,3
Proteína bruta	16,9	17,0	17,2	17,0
FDN [2] oriundo de silagem de milho	22,5	22,6	22,3	22,2
FDN total	31,9	31,9	34,7	34,7
Cinzas	5,4	5,6	7,1	7,4
Extrato Etéreo	6,5	6,5	6,1	6,1
Carboidratos não fibrosos [3]	39,3	39,0	34,9	34,9
	% da matéria natural			
Matéria seca	46,8	47,0	47,3	47,2

[1] Mineral: 18,5% de Ca; 15% de P; 3,0% de Mg; 3,0% de S; 240 ppm de Co; 3000 ppm de Cu; 8000 ppm de Mn; 12000 ppm de Zn; 90 ppm de Se; 180 ppm de I

[2] FDN: Fibra em detergente neutro

[3] Carboidratos não fibrosos: 100 – (Proteína bruta + FDN + Cinzas + Extrato Etéreo)

A digestibilidade aparente no trato digestivo total da matéria seca, da matéria orgânica, da fibra em detergente neutro e da matéria orgânica não-FDN foi determinada por coleta total de fezes realizada por 8 horas ininterruptas nos dias 22 a 24 de cada período. A coleta de fezes em cada dia foi iniciada com 8 horas de atraso com relação ao dia anterior, visando obter uma amostragem representativa das 24 horas do dia sem causar distúrbio no consumo de alimentos e na produção de leite dos animais. As fezes foram continuamente congeladas durante o período de coleta e uma amostra composta foi formada para cada vaca em cada período. As amostras compostas de fezes foram desidratadas e o conteúdo de FDN e cinzas, na matéria seca, foi determinado como anteriormente descrito para os alimentos. O CMOD foi calculado multiplicando o consumo de matéria orgânica mensurado entre os dias 20 a 24 de cada período pela digestibilidade da matéria orgânica mensurada entre os dias 22 a 24.

A concentração de derivados purínicos na urina foi mensurada para estimar a produção de proteína microbiana no rúmen. Uma amostra de urina foi coletada no início e no final de cada um dos três períodos de oito horas de coleta de fezes, perfazendo seis amostras por vaca em cada período experimental. Ao volume de urina coletado em cada amostragem foi imediatamente adicionado 10% de uma solução de ácido sulfúrico a 10% e a amostra foi armazenada a 4ºC. Uma amostra composta foi formada para cada vaca no final de cada período. As amostras compostas foram diluídas com água destilada na proporção 1:3 (urina: água) e congeladas a -20ºC até a realização das análises de alantoína, ácido úrico e creatinina. Para a análise de alantoína o procedimento adotado foi semelhante ao sugerido por Chen e Gomes (1992). Para as análises de ácido úrico e creatinina foram utilizados kits de análise laboratorial (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Cat. 73-4/30 para ácido úrico e Cat. 35-100 para creatinina).

2.1 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas usando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1985) com o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + Q_i + V_{j(i)} + P_k + C_l + M_m + EM_{lm} + \varepsilon_{ijklm}$$

Onde:

μ = Média geral;

Q_i = Efeito de quadrado (i = 1 a 5);

$V_{j(i)}$ = Efeito de vaca dentro de quadrado (j = 1 a 20);

P_k = Efeito de período (k = 1 a 4);

C_l = Efeito de carboidrato (l =polpa, milho);

M_m = Efeito de metionina (m =com MHA, sem MHA);

CM_{lm} = Interação entre carboidrato e metionina;

ε_{ijklm}= erro residual assumido independente e identicamente distribuído em uma distribuição normal com média zero e variância σ^2.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fluxo de proteína metabolizável, estimado com base na composição da dieta oferecida (TABELA 11) e no desempenho observado experimentalmente (TABELA 12), foi superior à exigência nutricional, tanto nos tratamentos com milho quanto nos tratamentos com polpa cítrica (TABELA 13). Entretanto, o teor de metionina na proteína metabolizável foi ao redor a 2%. Tem sido sugerido que a proporção ótima de metionina na proteína metabolizável, para maximizar a produção de proteína no leite, seria ao redor de 2,4% (NRC, 2001; Rulquin et al., 2001), sendo que teores acima de 2,1 a 2,2 são considerados adequados para uso prático (Chalupa & Sniffen, 2006). Estas concentrações são consideradas adequadas quando o teor de lisina é acima de 6,5 a 6,6% da proteína metabolizável, resultando em uma relação entre lisina e metionina de 3 a 3,1 (Schwab et al., 2004; Chalupa & Sniffen, 2006). A relação entre lisina e metionina nas dietas basais foi acima da recomendada (TABELA 13).

O teor de MHA na dieta oferecida foi 0,09% da matéria seca, equivalente à suplementação diária de cerca de 19,0 g no tratamento MilhoM e 18,0 g no tratamento PolpaM (TABELA 11). Assumindo que o produto contém 88% de ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutírico, que no mínimo 40% deste não é degradado pelos microorganismos ruminais (Koenig et al., 1999), e que 100% do não degradado estaria disponível para absorção e conversão em metionina no organismo animal, o fluxo diário de metionina metabolizável no tratamento MilhoM foi no mínimo de 7,6 gramas e no PolpaM foi de 7,2 gramas. Pela estimativa do CPM-Dairy (2006), a suplementação com MHA resultaria em metionina na proteína metabolizável de 2,35% na dieta com milho e de 2,34% na dieta com polpa cítrica. A suplementação seria suficiente para reduzir a

relação entre lisina e metionina na dieta com milho para 2,77 e na dieta com polpa de citros para 2,85.

TABELA 12: Desempenho de vacas leiteiras consumindo os tratamentos Milho com metionina (MilhoM), Milho, Polpa com metionina (PolpaM) e Polpa.

	MilhoM	Milho	PolpaM	Polpa	EPM[1]	Car[2]	Aa[2]	Int[2]
			kg d^{-1}					
Leite	28,7	28,2	28,2	28,0	0,50	0,47	0,48	0,74
CMS [3]	21,3	21,2	20,4	20,3	0,33	<0,01	0,76	0,93
CPB [3]	3,62	3,60	3,50	3,44	0,054	0,01	0,51	0,73
CMOD [3]	14,6	14,0	13,3	13,6	0,34	0,01	0,62	0,15
			Mcal d^{-1}					
Energia no leite	18,96	18,63	18,52	18,38	0,295	0,25	0,44	0,77
Eficiência 1[4]	1,34	1,33	1,38	1,37	0,022	0,06	0,59	0,94
			Mcal kg^{-1}					
Eficiência 2[4]	0,89	0,88	0,91	0,90	0,014	0,16	0,61	0,91
Eficiência 3[4]	1,30	1,35	1,41	1,34	0,033	0,15	0,78	0,12
			g kg^{-1}					
Eficiência P[5]	237	234	237	235	3,8	0,90	0,50	0,88
			kg					
Peso vivo	633	646	640	631	7,7	0,24	0,68	0,40
			1 a 5 (magra a gorda)					
C.C. [6]	3,21	3,25	3,24	3,19	0,059	0,26	0,47	0,32

[1] EPM = Erro padrão da média
[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Car = Carboidrato; Aa = Aminoácido e Int = Interação entre Car e Aa
[3] CMS = Consumo de matéria seca. CPB = Consumo de proteína bruta. CMOD = Consumo de matéria orgânica digestível
[4] Eficiência 1 = Leite/CMS. Eficiência 2 = Energia do leite/CMS. Eficiência 3 = Energia do leite/CMOD
[5] Eficiência P = Proteína verdadeira/CPB. Proteína verdadeira = gramas diárias de proteína no leite – gramas diárias de uréia no leite.
[6] C.C. = Condição corporal

Schwab & Ordway (2004) argumentam que tanto a quantidade absorvida do aminoácido quanto a relação entre lisina e metionina são importantes.

Quando a relação entre os aminoácidos não atinge o ideal teórico, mas a quantidade absorvida do aminoácido mais limitante é suficiente para atender a demanda nutricional, não ocorrerá restrição de desempenho. Neste caso, ocorrerá ineficiência pela não utilização para síntese protéica dos aminoácidos em excesso, relativamente ao mais limitante. No presente experimento, tanto o fluxo de metionina quanto o de lisina metabolizável foi superior à demanda por estes aminoácidos em cerca de 20% (TABELA 13). O fluxo diário de metionina metabolizável oriunda de MHA, ao redor de 7,4 g, seria suficiente para dobrar o balanço de metionina metabolizável, tanto no tratamento com milho quanto no tratamento com polpa (TABELA 13). Outro aminoácido pode ter sido mais limitante da produção de leite que metionina e lisina.

Baseado nas estimativas do CPM-Dairy (2006), a absorção teórica de isoleucina, valina e leucina apresentaram menor excesso, relativamente à demanda por estes aminoácidos, que a absorção de metionina e lisina. Na dieta com polpa cítrica, a absorção de isoleucina, valina e leucina, como proporção da exigência nutricional, foi 118%, 107% e 105%, e na dieta com milho foi 115%, 110% e 110%, respectivamente. Na dieta com milho, o teor de isoleucina na proteína metabolizável foi 4,85%, o de valina foi 5,35% e o de leucina foi de 7,77%. Na dieta com polpa, estes teores foram 4,91% para isoleucina, 5,18% para valina e 7,32% para leucina. As recomendações de Rulquin et al. (2001) para o teor de isoleucina, valina e leucina na proteína digerida no intestino seriam >5,0%, >5,3% e >8,8%. Pelas regressões de Sniffen et al. (2001), o teor ideal dos aminoácidos na proteína metabolizável seria 4,73% para isoleucina, 5,75% para valina e 8,37% para leucina. Estes dados sugerem que valina pode ter sido o aminoácido mais limitante da produção de leite neste experimento, já que apresentou a menor estimativa de fluxo diário, relativamente à exigência nutricional, e teve o teor na proteína metabolizável mais deficiente, relativamente ao recomendado (Rulquin et al., 2001; Sniffen et al., 2001).

TABELA 13: Fluxo de aminoácidos metabolizáveis estimado pelo NRC (2001) e pelo CNCPS (CPM-Dairy), considerando a composição das dietas experimentais e o desempenho animal nos tratamentos com milho (Milho) ou com polpa cítrica (Polpa).

	Milho	Polpa
NRC (2001)		
Balanço de proteína metabolizável (g d^{-1})	376	311
Metionina metabolizável (% da proteína metabolizável)	1,86	1,81
Lisina metabolizável (% da proteína metabolizável)	6,52	6,68
Lisina/Metionina	3,45	3,69
CNCPS (CPM-Dairy)		
Fluxo de metionina metabolizável (g d^{-1})	43,3	42,8
Metionina metabolizável (% da exigência)	122	124
Metionina metabolizável (% da proteína metabolizável)	2,00	2,01
Balanço de metionina metabolizável (g d^{-1})	7,9	8,2
Fluxo de lisina metabolizável (g d^{-1})	141,3	141,9
Lisina metabolizável (% da exigência)	122	126
Lisina metabolizável (% da proteína metabolizável)	6,52	6,68
Balanço de lisina metabolizável (g d^{-1})	25,7	29,2
Lisina/Metionina	3,26	3,32

O fato da metionina não ter sido o aminoácido mais limitante da produção de leite, é uma explicação plausível para a ausência de efeito deste tratamento sobre a secreção leiteira destes animais, apesar da produção diária de proteína ter sido numericamente maior quando MHA suplementou as dietas basais (TABELA 14).

TABELA 14: Produção, teor de sólidos e uréia no leite de vacas leiteiras consumindo os tratamentos Milho com metionina (MilhoM), Milho, Polpa com metionina (PolpaM) e Polpa.

	MilhoM	Milho	PolpaM	Polpa	EPM[1]	Car [2]	Aa [2]	Int [2]
			kg d^{-1}					
Gordura	0,963	0,948	0,957	0,951	0,016	0,93	0,53	0,81
Proteína	0,866	0,848	0,833	0,819	0,015	0,05	0,28	0,97
Lactose	1,332	1,312	1,284	1,279	0,023	0,09	0,62	0,73
			%					
Gordura	3,40	3,43	3,45	3,43	0,049	0,57	0,86	0,61
Proteína	3,03	3,03	2,99	2,95	0,020	<0,01	0,27	0,42
Lactose	4,63	4,65	4,54	4,55	0,019	<0,01	0,42	0,94
			mg dl^{-1}					
Uréia no leite	18,3	18,3	15,9	17,2	0,35	<0,01	0,09	0,07
			g d^{-1}					
Uréia no leite	5,4	5,2	4,6	4,8	0,13	<0,01	0,99	0,14

[1] EPM = Erro padrão da média
[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Car = Carboidrato; Aa = Aminoácido e Int = Interação entre Car e Aa.

A suplementação com metionina aumentou a secreção diária de proteína no leite em 16 gramas, sendo a resposta aparentemente não dependente do tipo de carboidrato dietético. Tendência de aumento na secreção de proteína por vacas leiteiras tem sido observada por outros autores (St-Pierre & Sylvester, 2005). Entretanto, a suplementação com metionina não foi capaz de aumentar a secreção diária de proteína na dieta com polpa cítrica para valores similares aos tratamentos com milho (TABELA 14).

A suplementação com metionina tendeu a aumentar a concentração de creatinina na urina (TABELA 15).

TABELA 15: Concentração de alantoina (Alan), creatinina (Crea) e ácido úrico (Acu) na urina nos tratamentos Milho com metionina (MilhoM) Milho, Polpa com metionina (PolpaM) e Polpa.

	MilhoM	Milho	PolpaM	Polpa	EPM[1]	Car[2]	Aa [2]	Int [2]
	Mm							
Alan	16,73	15,98	17,44	16,11	0,99	0,67	0,30	0,77
Acu	1,91	2,07	2,02	2,09	0,19	0,75	0,57	0,84
Crea	6,34	5,96	6,54	5,42	0,40	0,67	0,07	0,36
Alan/Crea	2,93	3,10	3,00	3,25	0,30	0,72	0,50	0,90
(Alan+Acu)/ Crea	3,29	3,52	3,36	3,69	0,35	0,74	0,44	0,90

[1] EPM = Erro padrão da média
[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Car = Carboidrato; Aa = Aminoácido e Int = Interação entre Car e Aa

Metionina, glicina e arginina são aminoácidos participantes da síntese de creatinina (Swenson & Reece, 1993). Estratégias alimentares capazes de aumentar o fluxo de aminoácidos metabolizáveis, seja de origem dietética ou microbiana, têm mostrado ser capazes de alterar a excreção diária de creatinina pela urina (Vagnoni & Broderick, 1997; Moscardini et al., 1998; Reis at al., 2001; Liu & McMenimam, 2006; Costa et al., no prelo;). Estes resultados sugerem que a suplementação com MHA foi capaz de prover metionina metabolizável ou estimular a síntese de aminoácidos metabolizáveis de origem microbiana. Este resultado é coerente com o efeito numérico do MHA sobre a secreção de proteína no leite (TABELA 14).

A substituição total de amido de milho do tipo duro, maduro e moído fino por polpa cítrica peletizada reduziu o consumo diário de matéria seca de 21,2 para 20,3 kg (TABELA 12). Broderick et al. (2002) também observaram que, em dietas com 39 e 27% de milho maduro moído grosseiramente, a substituição pelo mesmo teor dietético de uma mistura de 50% de silagem de grão úmido de milho e 50% de polpa cítrica induziu queda de 7,9% no consumo

de matéria seca. Solomon et al. (2000) também observaram queda no consumo de matéria seca quando um concentrado com 66% de milho maduro moído e 33% de polpa cítrica foi substituído por outro com 33% de milho e 66% de polpa. Em dietas com 33% de polpa cítrica, a inclusão de 10% de milho maduro moído fino, em substituição ao mesmo teor de polpa, aumentou o consumo de 19,5 para 20,5 kg/d (Salvador et al., 2008a).

Aparentemente, o consumo não foi regulado pela demanda metabólica de energia (Mertens, 1992), já que o consumo de matéria orgânica digestível foi superior nas dietas com milho (TABELA 12). Um mecanismo pelo qual a polpa cítrica poderia deprimir o consumo seria por enchimento físico do trato digestivo, induzido pela alta capacidade de retenção de água deste subproduto fibroso (Ramazin et al., 1994), apesar desta teoria não ter sido testada neste experimento. Voelker & Allen (2003) observaram que a substituição de milho úmido ensilado por teores dietéticos crescentes de polpa de beterraba, um alimento similar nutricionalmente à polpa cítrica, induziu queda no consumo e aumento no conteúdo de água e no peso da digesta ruminal.

O menor consumo nos tratamentos nos quais milho foi substituído por polpa cítrica não foi acompanhado por queda simultânea na produção de leite (TABELA 12), diferentemente do observado por outros autores (Broderick et al. 2002; Larson, 2003; Salvador et al., no prelo a e b). A eficiência alimentar estimada pela relação entre a produção diária de leite e o consumo de matéria seca foi superior nos tratamentos com polpa cítrica (TABELA 12). Pereira et al. (2007) também observaram que a relação entre o ganho de peso e o consumo de matéria seca de tourinhos em terminação aumentou quando polpa cítrica substituiu 50% do milho do concentrado.

Considerando o preço médio dos alimentos em 2007 e a diferença mensurada no consumo entre dietas (TABELA 12), o custo diário com alimentação na dieta com polpa cítrica foi cerca de 88% do custo da dieta com

milho (Invest Compras, Belo Horizonte, comunicação pessoal). Como a produção de leite foi similar entre tratamentos, o retorno ao custo alimentar foi superior na dieta onde polpa cítrica substituiu o milho. Apesar da substituição de milho por polpa ter sido aparentemente interessante neste experimento, a maior secreção de proteína no leite, observável em menor substituição de milho por polpa cítrica, pode justificar a inclusão do grão em dietas com alto teor de polpa peletizada quando o sistema de pagamento do leite valoriza a secreção de proteína (Costa et al., no prelo; Salvador et al., 2008b).

A eficiência energética não foi alterada pela substituição de milho por polpa cítrica (TABELA 12). Foi observado aumento apenas numérico na relação entre a secreção diária de energia no leite e o consumo de matéria seca quando a polpa substituiu o milho. O motivo para a maior eficiência alimentar, no tratamento com polpa, não ter se traduzido em maior eficiência na secreção de energia no leite, se explica pela maior secreção diária de proteína e lactose nos tratamentos com milho (TABELA 14). Considerando que a fermentação ruminal da polpa de citros normalmente resulta em maior relação entre acetato e propionato que a fermentação do amido do milho (Vijchulata et al., 1980; Ben-Ghedalia et al., 1989; Rocha Filho et al., 1999; Leiva et al., 2000; Ariza et al., 2001; Broderick et al., 2002; Salvador et al., 2008a), seria esperada maior eficiência energética nas dietas com milho. Neste tipo de formulação dietética, a mudança no perfil dos carboidratos dietéticos não foi capaz de induzir variação detectável entre a energia secretada no leite e o CMOD, sugerindo que a perda energética na forma de metano foi similar entre as dietas. A eficiência na conversão de proteína alimentar em proteína verdadeira no leite também foi similar entre tratamentos (TABELA 12).

O maior consumo diário de proteína e energia nos tratamentos com milho (TABELA 12) parece ser uma explicação plausível para a maior secreção de proteína e lactose nestes tratamentos (TABELA 14). A ausência de efeito

detectável sobre a excreção de derivados purínicos na urina (TABELA 15), sugere que houve similaridade no aporte de aminoácidos de origem microbiana para a síntese de proteína no leite. Queda no teor ou na produção diária de proteína do leite tem sido observada quando polpa cítrica substituiu milho na dieta de vacas leiteiras (Leiva et al., 2000; Solomon et al., 2000; Broderick et al., 2002; Larson 2003; Salvador et al., 2008b). Esta resposta é normalmente atribuída à maior eficiência de síntese protéica no rúmen quando o substrato é amido comparativamente à pectina, fibra ou sacarose (Hall & Herejk, 2001; Sannes et al., 2002). Entretanto, a substituição de cevada por polpa cítrica aumentou o fluxo ruminal de proteína microbiana *in vivo* (Ben-Ghedalia et al., 1989). A resposta *in vivo*, distintamente do observado *in vitro*, sugere que outros fatores, além da capacidade de indução de síntese protéica por unidade de carboidrato fermentável no rúmen, podem ter atuado. Uma menor propensão de queda no pH ruminal em dietas nas quais polpa substitui milho pode ter ocorrido (Marounek et al., 1985; Costa et al., no prelo), sendo um fator capaz de determinar a síntese microbiana, apesar da alta fermentabilidade da polpa cítrica ter sido evidenciada *in vivo* (Costa et al., 2003; Salvador et al., 2008a).

A concentração e o fluxo diário de uréia no leite foram maiores nos tratamentos com milho do que naqueles com polpa (TABELA 14). A incorporação, pelos microorganismos ruminais, da amônia oriunda dos rápidos processos de desaminação de aminoácidos (Broderick & Wallace, 1988) e da amoniogênese a partir de uréia dietética pode ter sido menor nos tratamentos com milho do que nos tratamentos com polpa. Outros autores mensuraram menor teor de amônia no rúmen de vacas alimentadas com polpa cítrica do que naquelas alimentadas com milho (Ariza et al., 2001; Broderick et al., 2002). O milho em estádio maduro de maturação utilizado neste experimento era de textura dura do endosperma e, portanto, de baixa degradabilidade do amido no rúmen (Corrêa et al., 2002). Broderick et al. (2002) observaram menor

concentração de amônia, maior concentração de ácidos graxos voláteis e menor pH ruminal quando polpa e silagem de grão úmido de milho substituíram o mesmo teor de milho maduro moído grosseiramente na dieta de vacas leiteiras.

Apesar da diferença química nos carboidratos dietéticos ser uma explicação plausível para a maior uréia no leite nos tratamentos com milho, outro fator que pode ter atuado conjuntamente foi o menor consumo diário de proteína nos tratamentos com polpa (TABELA 12). A excreção de nitrogênio em vacas leiteiras normalmente se correlaciona com o consumo de nitrogênio e com o teor de proteína da dieta (Broderick & Clayton, 1997; Verité & Delaby, 2000). O relacionamento entre o consumo diário de proteína e a excreção diária de proteína e de uréia no leite foi avaliado (FIGURA 2). Para tal, o valor de cada vaca em cada um dos quatro períodos experimentais, foi padronizado para o desvio padrão da variável, em cada período. A correlação entre o consumo de proteína e a excreção diária de proteína e de uréia foi positiva, mostrando que este pode ter sido um fator atuando conjuntamente à química dos carboidratos dietéticos na resposta observada em excreção de proteína e uréia, já que o consumo de proteína foi mais alto no milho do que na polpa.

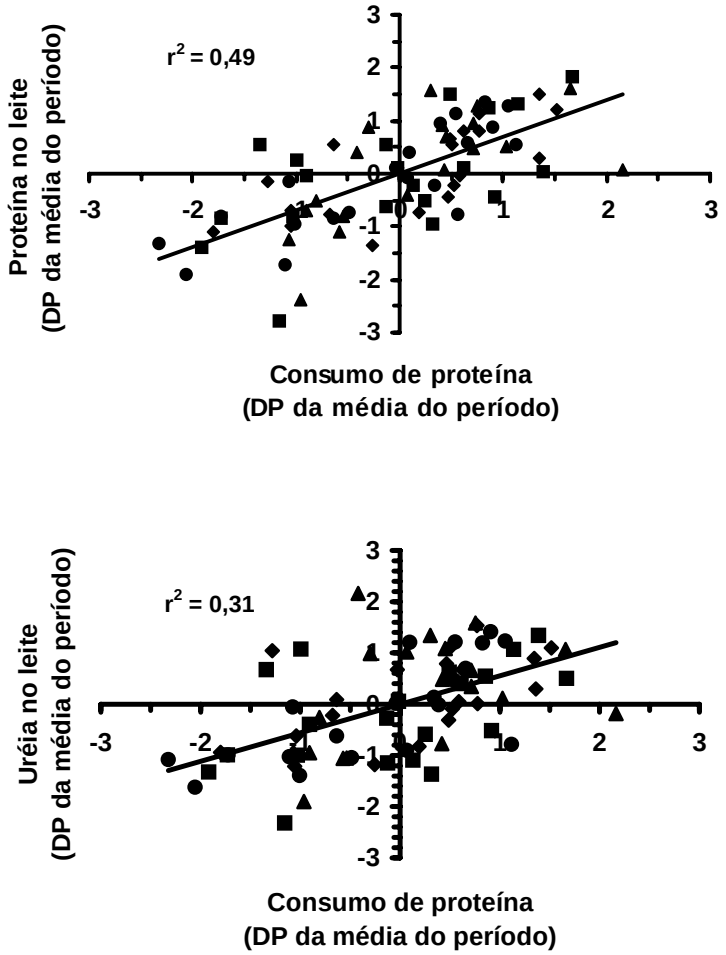

FIGURA 2: Consumo diário de proteína bruta por vaca e excreção diária de proteína e de uréia no leite nos tratamentos MilhoM (▲), Milho (◆), PolpaM (■) e Polpa (●). O valor de cada vaca foi padronizado para a média e para o desvio padrão da variável em cada um dos quatro períodos experimentais.

A digestibilidade aparente da FDN no trato digestivo total foi 14% menor no tratamento apenas com milho do que naquele apenas com polpa cítrica (TABELA 16), induzível, tanto pela maior presença de amido no ambiente

ruminal e seu efeito negativo sobre a digestibilidade da fibra no rúmen (Mertens & Loften, 1980), quanto pela diluição da FDN oriunda da forragem por FDN de alta digestibilidade da polpa cítrica (Miron et al., 2001).

TABELA 16: Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total de vacas leiteiras consumindo os tratamentos Milho com metionina (MilhoM) Milho, Polpa com metionina (PolpaM) e Polpa.

	MilhoM	Milho	PolpaM	Polpa	EPM[1]	Car [2]	Aa [2]	Int [2]
	% do consumido							
MS [3]	69,1	67,3	68,1	68,4	1,01	0,92	0,48	0,31
MO [3]	72,8	71,0	72,4	72,8	0,92	0,44	0,43	0,24
FDN [3]	41,9	36,5	42,3	42,4	1,94	0,12	0,18	0,17
MOnFDN [3]	79,4	79,2	78,8	79,5	0,99	0,85	0,82	0,64

[1] EPM = Erro padrão da média
[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Car = Carboidrato; Aa = Aminoácido e Int = Interação entre Car e Aa
[3] MS = Matéria seca; MO = Matéria orgânica; FDN = Fibra em detergente neutro; MOnFDN = Matéria orgânica não-FDN

Entretanto, a digestibilidade da FDN no tratamento onde MHA suplementou a dieta com milho foi similar a digestibilidade mensurada nos tratamentos com polpa cítrica (TABELA 16). O teor de enxofre nas dietas não suplementadas com MHA foi ao redor de 0,19% da MS, valor no limiar mínimo da exigência nutricional (NRC, 2001). Patterson & Kung Jr. (1988) observaram que, quando o enxofre era deficiente, a suplementação com MHA aumentou a digestibilidade ruminal da fibra *in vitro*. Considerando que na dieta com milho o pico de síntese de proteína microbiana pode ter ocorrido mais tardiamente do que nas dietas com polpa cítrica (Hall & Herejk, 2001), e que a digestão da fibra é um processo lento comparativamente à digestão de carboidratos não-fibrosos, a manutenção de alguma metionina intacta no fluído ruminal pode ter sido capaz de alterar a disponibilidade ou a forma do enxofre disponível para os

microorganismos fibrolíticos e a digestibilidade ruminal da fibra apenas na dieta com alto amido.

4 CONCLUSÕES

A substituição de milho maduro moído fino por polpa cítrica peletizada deprimiu o consumo de matéria seca e a secreção de proteína no leite, entretanto, a dieta com polpa cítrica foi mais eficiente na conversão de consumo em leite.

A suplementação com MHA não contrabalançou o efeito negativo da substituição total de milho por polpa cítrica sobre a secreção diária de proteína no leite.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS **Official methods of analysis,** 12th ed. Washington, D.C., 1975. v. 1, 1094 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS **Official methods of analysis.** 13th ed. Washington, D.C., 1980. v. 1.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CITRUS. **Resíduos de polpa de citrus**. Disponível em: <http: //www.abecitrus.com.br/>. Acesso em; 2 jan. 2008.

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 83, n. 7, p. 1598-1624, July 2000.

ARIZA, P.; BACH, A.; STERN, M. D.; HALL, M. B. Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, n. 10, p. 2713-2718, Oct. 2001.

ARMENTANO, L. E.; BERTICS, S. J.; DUCHARME,G. A. Response of lactating cows to methionine or methionine plus lysine to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 1194-1199, 1997.

BEN-GHEDALIA, D.; YOSEF, E.; MIRON, J.; EST, Y. The effects of starch and pectin rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 24, n. 3/4, p. 289-298, July 1989.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Desenvolvimento. Instrução Normativa nº 8 de 25 de março de 2004 publicada no **Diário Oficial da União**, 26 de março de 2004, nº 59, sessão 1, página 5, 2004.

BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 4, p. 2964-2971, Nov. 1997.

BRODERICK, G. A.; WALLACE, J. R. Effects of dietary nitrogen source on concentrations of ammonia, free amino acids and fluorescamine-reactive peptides in the sheep rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 9, p. 2233-2238, Sept. 1988.

BRODERICK, G. A.; MERTENS, D. R.; SIMONS, R. Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 7, p. 1767-1776, July 2002.

CARVALHO, G. Os efeitos do etanol e biodiesel nos preços dos insumos para alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE**,** 8., 2007, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: PMU, 2007. p. 103-122.

CHALUPA, W.; SNIFFEN, C. Balancing rations on the basis of amino acids: The CPM-dairy approach. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 21, 2006, Tempe. **Proceedings**… Tempe: University of Florida, 2006. p. 96-109.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-an overview of technical details**. International Feed Research Unit**. Aberden: Rowett Research Institute, 1992. 21 p. (Occasional publication).

CORREA, C. E. S.; SHAVER, R. D.; PEREIRA, M. N.; LAUER, J. G.; KOHN, K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 11, p. 3008-3012, Nov. 2002.

COSTA, F. M. J.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; DIAS JÚNIOR, G. S.; ZACARONI, O. F. Substituição parcial da silagem de grãos de milho de textura dura ou macia por dois por dois teores dietéticos de polpa cítrica para vacas em lactação. In: _____. **Resposta de vacas em lactação alimentadas com dietas onde milho foi substituído por polpa cítrica à suplementação com metionina e à ensilagem de grãos de milho de textura dura ou macia.** 2008. p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. No prelo.

COSTA, H. N.; PEREIRA, M. N.; MELO, R. P.; CHAVES, M. L. Effect of the rumen environment on ruminal in situ degradability of sugarcane. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., 2003. **Proceedings…** Porto Alegre: UFRGS, 2003. p. 33.

CPM-Dairy Ratio Analyzer: version 3.08.01. Ithaca: Cornell University; Kenneth Square: University of Pennsylvania; W.H. Miner Agricultural Research Institute, 2006.

DAIRY PARTNERS AMÉRICAS. Pagamento de leite pela empresa DPA Disponível em: <http://www.dpamericas.com.br>. Acesso em: 5 out. 2005.

DUSKOVÁ, D.; MAROUNEK, M. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin-degrading enzymes in the rumen bacterium *Lachnospira multiparous*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 159-163, Aug. 2001.

GHEMAN, A. M.; BERTRAND, J. A.; JENKINS, T. C.; PINKERTON, B. W. The effect of carbohydrate source on nitrogen capture in dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 7, p. 2659-2667, July 2006.

HALL, M. B.; HEREJK, C. Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. p.2486-2493, 2001.

KOENIG, K. M.; RODE, L. M.; KNIGHT, C. D.; McCULLOUGH, P. R. Ruminal escape, gastrointestinal absorption, and response of serum methionine to supplementation of liquid methionine hydroxyl analog in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 11, p. 355-361, Nov. 1999.

LARSON, C. C. The effects of nonfiber carbohydrate source and protein degradability on lactation performance of Holstein cows. 2003. 108 p. Thesis (Master of Science) – University of Florida, Gainesville.

LEIVA, E.; HALL, M. B.; VAN HORN, H. H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 12, p. 2866-2875, Dec. 2000.

LIU, Z. J.; McMENIMAN, N. P. Effect of nutrition level and diets on creatinine excretion by sheep. **Small ruminant research**, Amsterdam, v. 63, n. 3, p. 265-273, June 2006.

MAROUNEK, M.; DUSKOVÁ, D. Metabolism of pectin in rumen bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* and *Prevotella ruminicola*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 159-163, Aug. 1999.

MAROUNEK, M.; BARTOS, S.; BREZINA, P. Factors influencing the production of volatile fatty acids from hemicellulose, pectin and starch by mixed culture of rumen microorganisms. **Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierenährung and Futtermittelkunde,** Hamburg, v. 53, n. 1/2, p. 50-58, 1985.

MERTENS, D. R.; LOFTEN, J. R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 9, p. 1437-1446, Sept. 1980.

MERTENS, J. C. Nonstructural and structural carbohydrates. In: VAN HORN, H. H.; WILCOX, C. J. **Large Dairy Herd Management**. Champaign: American dairy Science Association, 1992. v. 2, p. 219-235.

MIRON, J.; YOSEF, E.; BEN-GHEDALIA, D. Composition and in vitro digestibility of monosaccharide constituents of selected byproducts feeds. **Journal of Agricultural of Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 5, p. 2322-2326, May 2001.

MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T. C.; LUIMES, P. H.; McBRIDE, B. W.; SUSMEL, P. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n.7, p. 2421-2329, July 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7. ed. Washington: National Academy of Sciences, 2001. 381 p.

PATTERSON, J. A.; KUNG, J. R. L. Metabolism of dl-methionine and methionine analogs by rumen microorganisms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 12, p. 3292-3301, Dec. 1988.

PEREIRA, E. M.; SANTOS, F. A. P.; NUSSIO, L. G.; PEDROSO, A. M.; COSTA, D. F. A.; IMAIZUMI, H.; BITTAR, C. M. M. Estimativa de energia metabolizável de rações com polpa cítrica em substituição ao milho para tourinhos em terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 1, p. 216-224, jan./fev.2007.

PEREIRA, M. N.; VON PINHO, R. G., BRUNO, R. G. S.; CALESTINE, G. A. Ruminal degradation of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, p. 353-467, 2004.

RAMANZIN, M.; BAILONI, L.; BITTANTE, G. Solubility, water-holding capacity, and specific gravity of different concentrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 3, p .774-781, Mar. 1994.

REIS, R. B.; SAN EMETERIO, F.; COMBS, D. K.; SATTER, L. D.; COSTA, H. N. Effect of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.429-441, 2001.

REIS, R. B.; SAN EMETERIO, F.; COMBS, D. K.; SATTER, L. D.; COSTA, H. N. Effect of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 2, p. 429-441, Feb. 2001.

ROCHA FILHO, R. R.; MACHADO, P. F.; D'ARCE, R. D.; FRANCISCO JÚNIOR, J. C. Citrus and corn pulp related to rúmen volatile fatty acids. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 471-477, abr./jun. 1999.

RULQUIN, H.; GRAULET, B.; DELABY, L.; ROBERT, J. C. Effect of different forms of methionine on lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 4387-4394, Oct. 2006.

RULQUIN, H.; VERITÉ, R.; GUINARD-FLAMENT, J. Acides aminés digestibles dans l´intestin. Le système AADI et les recommendations d´apport pour la vache laitière. **INRA Production Animales,** Versailles, v. 14, n. 4, p. 265-274, 2001.

SALVADOR, C. S.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; MELO, L. Q.; CHAVEZ, M. L. Resposta de vacas leiteiras à substituição total do milho por polpa cítrica e à suplementação com minerais orgânicos I: consumo e digestão. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2008a. No prelo.

SALVADOR, C. S.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; MELO, L. Q.; CHAVEZ, M. L. Resposta de vacas leiteiras à substituição total do milho por polpa cítrica e à suplementação com minerais orgânicos II: Desempenho e economia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2008b. No prelo.

SANNES, R. A.; MESSMAN, M. A.; VAGNONI, D. B. Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 4, p. 900-908, Apr. 2002.

SCHWAB, C. G.; ORDWAY, R. S. Balancing diets for aminoacids: implications on production efficiency and feed costs. In: PENNSYLVANIA STATE DAIRY CATTLE NUTRITION WORKSHOP, 2004, Grantville. **Proceedings...** Grantville: Pennsylvania State University, 2004. p. 1-16.

SCHWAB, C. G.; ORDWAY, R. S.; WHITEHOUSE, N. L. Amino acid balancing in the context of MP and RUP requirements. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 15., 2004, Gainesville. **Proceedings…** Gainesville: University of Florida, 2004. p. 20-26.

SHAVER, R. D. Impact of vitreousness, processing, and chop length on the utilization of corn silage by dairy cows. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 14., 2003, Gainesville. **Proceedings…** Gainesville: University of Florida, 2003.

SNIFFEN, C. J.; CHALUPA, W. H.; UEDA, T.; SUZUKI,H.; SHINZATO, I.; FUJIEDA, T.; JULIEN,W.; RODE, L.; ROBINSON, P.; HARRISON, J.; FREEDEN, A.; NOCEK, J. Amino nutrition of the lactation cow. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS**,** 2001, Rochester. **Proceedings…** Rocherter: [s.n.], 2001. p. 188-206.

SOLOMON, R.; CHASE, L. E.; BEN-GHEDALIA, D.; BAUMAN, D. E. The effect of nonstructural carbohydrate and addition of full fat extruded soybeans on the concentration of conjugates linoleic acid in the milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 83, n. 6, p. 1322-1329, June 2000.

St-PIERRE, N. R.; SYLVESTER, J. T. Effects of 2-hidroxy-4- (methylthio) butanoic acid (HMB) and its isopropyl ester on milk production and composition by Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 7, p. 2487-2497, July 2005.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes Physiology of Domestic Animals.** 11th ed. Ithaca: Cornell University, 1993. 962 p.

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A. Effects of supplementation of energy or ruminally undegraded protein to lactating cows fed alfalfa hay or silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 8, p. 1703-1712, Aug. 1997.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.

VERITÉ, R.; DELABY, L. Relation between nutrition, performances and nitrogen excretion in dairy cows. **Annales Zootechnie,** Bruxelles, v. 49, p. 217-230, 2000.

VIJCHULATA, P.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B.; POTTER, S. G.; PALMER,A. Z.; BECKER, H. N. Effect of dried citrus pulp and cage layer manure in combination with monensin on performance and tissue mineral composition in finishing steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 50, n. 6, p. 1022-1030, June 1980.

VOELKER, J. A.; ALLEN, M. S. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 1. Effects on feed intake, chewing behavior, and milk production in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 11, p. 3542-3552, Nov. 2003.

WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E.; BOMAN, R. L.; TROUTT JUNIOR, H. F.; LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, n. 3, p. 495-501, Mar. 1982.

ANEXO

LISTA DE TABELAS Página

TABELA 1. Composição bromatológica da polpa cítrica. 7

TABELA 2. Produção de leite em experimentos onde houve substituição de milho por polpa de citros. 12

TABELA 3. Produção e teor de proteína no leite em dietas onde houve substituição de milho (Milho) por polpa de citros (Polpa). 16

TABELA 4. Resposta à suplementação com metionina resistente à fermentação ruminal ou por infusão endovenosa de metionina em vacas leiteiras. Valores à esquerda se referem à menor suplementação adotada no experimento. Valores únicos implicam que não houve resposta significativa a *P*<0,10 36

TABELA 5. Partículas das silagens de grão úmido de milhos híbrido duro (DURO) e dentado (DENTADO) retidas em diferentes peneiras..... 66

TABELA 6. Composição das dietas oferecidas em ingredientes e das dietas consumidas em nutrientes nos tratamentos DUAA (Milho duro e amido alto), DUAB (Milho duro e amido baixo), DEAA (Milho dentado e amido alto), DEAB (Milho dentado e amido baixo). 68

TABELA 7. Desempenho de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo)..... 73

TABELA 8. Produção e teor de sólidos no leite de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo). 74

TABELA 9. Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total e pH ruminal e fecal de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo). 75

TABELA 10. Concentração de Ácido Úrico (Au), Alantoína (Ala) e Creatinina (Crea) na urina de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo). 78

TABELA 11. Composição das dietas oferecidas em ingredientes e das dietas consumidas em nutrientes nos tratamentos Milho, Milho com metionina (MilhoM), Polpa e Polpa com metionina (PolpaM). 95

TABELA 12: Desempenho de vacas leiteiras consumindo os tratamentos Milho com metionina (MilhoM), Milho, Polpa com metionina (PolpaM) e Polpa. 99

TABELA 13: Fluxo de aminoácidos metabolizáveis estimado pelo NRC (2001) e pelo CNCPS (CPM-Dairy), considerando a composição das dietas experimentais e o desempenho animal nos tratamentos com milho (Milho) ou com polpa cítrica (Polpa). 101

TABELA 14: Produção, teor de sólidos e uréia no leite de vacas leiteiras consumindo os tratamentos Milho com metionina (MilhoM), Milho, Polpa com metionina (PolpaM) e Polpa. 102

TABELA 15: Concentração de alantoina (Alan), creatinina (Crea) e ácido úrico (Acu) na urina nos tratamentos Milho com metionina (MilhoM) Milho, Polpa com metionina (PolpaM) e Polpa. 103

TABELA 16: Digestibilidade aparente de nutrientes no trato digestivo total de vacas leiteiras consumindo os tratamentos Milho com metionina (MilhoM) Milho, Polpa com metionina (PolpaM) e Polpa. 109

TABELA 17. Atividade mastigatória em minutos por dia e em minutos por kg de consumo de matéria seca de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo). 122

LISTA DE FIGURAS Página

FIGURA 1. Conversão de D-metionina e metionina-hidroxi-análogo (MHA) em L-metionina (Adaptado de Dibner, 2003).....39

FIGURA 2: Consumo diário de proteína bruta por vaca e excreção diária de proteína e de uréia no leite nos tratamentos MilhoM (▲), Milho (◆), PolpaM (■) e Polpa (●). O valor de cada vaca foi padronizado para a média e para o desvio padrão da variável em cada um dos quatro períodos experimentais. 108

APÊNDICE

TABELA 17. Atividade mastigatória em minutos por dia e em minutos por kg de consumo de matéria seca de vacas leiteiras consumindo os tratamentos DUAA (milho duro e amido alto), DUAB (milho duro e amido baixo), DEAA (milho dentado e amido alto), DEAB (milho dentado e amido baixo).

	DUAA	DUAB	DEAA	DEAB	EPM[1]	Tex[2]	Am[2]	Int[2]
			Min d^{-1}					
Ingestão	289	310	301	289	8,6	0,64	0,67	0,07
Ruminação	478	502	493	504	17,0	0,62	0,31	0,71
Mastigação [3]	767	811	794	793	17,5	0,81	0,24	0,20
			min kg^{-1}					
Ingestão	15,4	16,8	17,2	15,2	0,67	0,89	0,69	0,02
Ruminação	25,8	27,4	27,7	26,4	1,10	0,70	0,87	0,21
Mastigação [3]	41,2	44,2	44,8	41,7	1,45	0,72	0,95	0,04

[1] EPM = Erro padrão da média

[2] Valor de probabilidade (*P*) para os efeitos de Tex = textura do grão de milho; Am = Teor de amido na dieta e Int = Interação entre Tex e Am

[3] Mastigação = Ingestão + Ruminação

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo