



TALITA DE LURDES PENTO

**USO DE METIONINA PARA MELHORAR A UTILIZAÇÃO
DA PROTEÍNA E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS F1
HOLANDÊS X GIR EM PASTAGEM DURANTE O VERÃO**

**LAVRAS - MG
2023**

TALITA DE LURDES PENTO

**USO DE METIONINA PARA MELHORAR A UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA E A
SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS F1 HOLANDÊS X GIR EM PASTAGEM DURANTE
O VERÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

Prof (a). Dr (a). Marina de Arruda Camargo Danes
Orientadora

Dr. Ronaldo Braga Reis
Coorientador

**LAVRAS – MG
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pento, Talita de Lurdes.

Uso de metionina para melhorar a utilização da proteína e saúde
de vacas leiteiras F1 Holandês x Gir em pastagem durante o verão /
Talita de Lurdes Pento. - 2022.

66 p.

Orientador (a): Marina Arruda Camargo Danes.

Coorientador (a): Ronaldo Braga Reis.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Metionina. 2. Vacas à pasto. 3. Aminoácido. I. Danes,
Marina Arruda Camargo. II. Reis, Ronaldo Braga. III. Título.

**USO DE METIONINA PARA MELHORAR A UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA E
SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS F1 HOLANDÊS X GIR EM PASTAGEM DURANTE
O VERÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de outubro de 2022.

Dra. Marina de Arruda Camargo Danes, Universidade Federal de Lavras

Dra. Fernanda Batistel, Universidade da Flórida

Dr. Ronaldo Braga Reis, Universidade Vale do Rio Verde

Profa. Dra. Marina de Arruda Camargo Danes
Orientadora

Dr. Ronaldo Braga Reis
Coorientador

**LAVRAS – MG
2023**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pelo dom da vida. Por iluminar meus caminhos, colocando em minha vida anjos que me ajudaram e guiaram, e me permitiram vencer essa etapa.

Meu agradecimento em especial a meu marido, Marcus Vinicius, pela paciência, amor e dedicação, sendo um apoio durante esses anos, não medindo esforços para me ajudar a concretizar essa fase.

A minha filha Valentina, por ser minha inspiração diária, motivo da minha força e dedicação.

A minha mãe, Marli por me encorajar a acreditar nos meus sonhos e por todo apoio.

Ao meu pai, João Dehon (*in memoriam*), exemplo de pessoa, que levarei com muita saudade por toda vida. Lamento que não esteja aqui hoje para me ver como Médica Veterinária e Mestre. Mas, certamente, onde quer que esteja, saberá da importância que teve nessa conquista.

Ao meu irmão, Guilherme e minhas sobrinhas Ana Júlia e Maria Eduarda, por estarem sempre ao meu lado.

Aos meus amigos e familiares por torcerem por mim e fazerem parte dessa conquista. Em especial aos meus sogros, Maria Antonieta e Luiz Marcus e minhas cunhadas Amanda e Graziela.

A minha orientadora, Professora Marina Danes, pela imensa dedicação a minha formação, por acreditar em mim, por todo aprendizado, apoio e oportunidade de aprendizado ao longo dos anos.

Ao INPPAR, por ter me proporcionado uma troca de experiência tão enriquecedora e pelas amizades que vou levar pra vida. Pela ajuda na condução do experimento e análises laboratoriais, em especial ao Victor, que tanto me ajudou na condução do experimento e análises.

Agradeço ao meu coorientador, Dr. Ronaldo Braga Reis, pela oportunidade de trabalharmos juntos novamente no mestrado, por toda experiência e conhecimento compartilhado.

Aos funcionários da fazenda Vargem Grande, em especial ao Marquinhos, que foram atenciosos e fundamentais para a condução deste trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Pesquisa Animal, em especial ao Márcio, Flávio e Stefânia pela colaboração e ajuda nas análises.

Gostaria de agradecer também aos membros da banca examinadora que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Cnpq, pela concessão da bolsa de estudos, apoiando financeiramente a realização desta pós-graduação.

A Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por me proporcionarem realizar esta etapa de formação profissional.

A empresa ADISSEO, na pessoa de Fernanda Lopes, pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma, para a realização deste árduo trabalho, fica meus sinceros e profundos agradecimentos.

MUITO OBRIGADA!

“Escolhe um trabalho de que gastes e não terás que trabalhar nem um dia na tua vida”

Confúcio

“A cada dia que vivo, mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca e que, esquivando-nos do sofrimento, perdemos também a felicidade.”

Mary Cholmondeley

RESUMO

A metionina é um aminoácido essencial, muitas vezes identificado como o aminoácido mais limitante para a produção de leite. Além disso, também atua no sistema imunológico e contra o estresse oxidativo em mamíferos. O objetivo foi avaliar a suplementação com metionina protegida no desempenho de vacas mestiças lactantes mantidas em pastagens durante o verão. Vinte e quatro vacas multíparas F1 Holandês x Gir, produzindo $31(\pm 4)$ L d^{-1} , com 590 kg de peso corporal (PC) e 100 ± 55 dias de lactação foram utilizadas em delineamento em blocos casualizados para avaliar dois tratamentos durante 63 dias para avaliar a suplementação de uma dieta controle com Metionina Protegida da Degradação Ruminal (MPR-Smartamine M®, Adisseo SA) para ajustar a relação lisina/metionina (CNCPS) de 3,1 na dieta controle para 2,8 na dieta suplementada. Os períodos experimentais foram de 21 dias, com 14 dias de adaptação às dietas. Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia, às 05h30 e às 14h30. Amostras de leite foram coletadas durante três dias consecutivos, nas semanas 3, 6 e 9 do período experimental. Houve efeito da suplementação com metionina na produção de leite corrigido para energia (25,0 vs 26,4 kg d^{-1} $P = 0,08$), porcentagens de proteína (3,16 vs. 3,28% $P = 0,06$) e caseína (2,48 vs. 2,58 $P = 0,09$), teor de sólidos totais (11,89 vs. 12,27 $P = 0,09$). O CMS total não foi afetado pelo tratamento ($P = 0,89$). Não houve efeito em derivados de purina na urina (371,68 vs 433,2 mmol d^{-1}) e produção de proteína microbiana (1618,92 vs 1845 g d^{-1}). Os valores de NUP não foi afetado ($P = 0,73$) para o grupo controle ou MPR. A concentração de AGNE não foi afetada pelos tratamentos ($P = 0,83$). Não houve aumento da concentração plasmática de metionina do grupo MPR em relação ao controle ($P = 0,22$). A alimentação com MPR melhorou o desempenho da lactação através do aumento da produção de leite corrigido para energia, proteína, caseína e teor de sólidos totais.

Palavras-chave: produção de leite, aminoácidos, vacas à pasto, nutrição de precisão

ABSTRACT

Methionine is an essential amino acid, often identified as the most limiting amino acid for milk production. In addition, it also acts on the immune system and against oxidative stress in mammals. The objective was to evaluate supplementation with protected methionine on the performance of lactating crossbred cows maintained on pastures during the summer. Twenty-four F1 Holstein x Gir multiparous cows, producing $31(\pm 4)$ L d⁻¹, with 590 kg of live weight (BW) and 100 ± 55 days of lactation were used in a randomized block design to evaluate two treatments for 63 days for to evaluate the supplementation of a control diet with Methionine Protected from Ruminal Degradation (MPR-Smartamine M®, Adisseo SA) to adjust the lysine/methionine ratio (CNCPS) from 3.1 in the control diet to 2.8 in the supplemented diet. The experimental periods were 21 days, with 14 days of adaptation to the diets. The animals were milked twice a day, at 5:30 am and 2:30 pm. Milk samples were collected during three consecutive days, at weeks 3, 6 and 9 of the experimental period. There was an effect of methionine supplementation on milk production corrected for energy (25.0 vs. 26.4 kg d⁻¹ P = 0.08), protein percentages (3.16 vs. 3.28% P = 0.06) and casein (2.48 vs. 2.58 P = 0.09), total solids content (11.89 vs. 12.27 P = 0.09). Total CMS was not affected by treatment (P = 0.89). There was no effect on purine derivatives in urina (371.68 vs 433.2 mmol d⁻¹) and microbial protein production (1618.92 vs 1845 g d⁻¹). NUP values were not affected (P = 0.73) for the control or MPR group. The NEFA concentration was not affected by the treatments (P = 0.83). There was no increase in plasma methionine concentration in the MPR group compared to the control (P = 0.22). Feeding with MPR improved lactation performance by increasing milk production corrected for energy, protein, casein and total solids content.

Keywords: milk production, amino acids, grazing cows, precision nutrition

RESUMO INTERPRETATIVO E RESUMO GRÁFICO

USO DE METIONINA PARA MELHORAR A UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA E A SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS F1 HOLANDÊS X GIR EM PASTAGEM DURANTE O VERÃO

Elaborado por **Talita Pento** e Orientado por **Marina de Arruda Camargo Danes**

A metionina é um aminoácido essencial, muitas vezes identificado como o aminoácido mais limitante para a produção de leite. Além disso, também atua no sistema imunológico e contra o estresse oxidativo em mamíferos. Dessa forma, a metionina tem potencial de auxiliar as vacas em pastejo a aliviar os efeitos deletérios do calor relacionados ao estresse oxidativo. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a suplementação de uma dieta com Metionina Protegida da Degradação ruminal no desempenho de vacas mestiças lactantes mantidas em pastagens durante o verão.

Houve efeito da suplementação com metionina na produção de leite corrigido para energia, porcentagens de proteína e caseína, teor de sólidos totais. O tratamento com metionina não alterou o consumo de matéria seca total, derivados de purina e produção de proteína microbiana. Ainda neste experimento, os valores de nitrogênio uréico no plasma, concentração de ácidos graxos não esterificados e concentração plasmática de metionina não foi afetada pelos tratamentos. Em geral, os resultados mostram que a alimentação com metionina protegida melhorou o desempenho da lactação através do aumento da produção de leite corrigido para energia, proteína, caseína e teor de sólidos totais.



SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Produção de leite em pastagem tropical	13
2.2 Suplementação de vacas à pasto.....	16
2.3 Aminoácidos para vacas leiteiras	18
2.4 Metionina.....	19
2.5 Comportamento ingestivo de vacas leiteiras à pasto	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Local do experimento	23
3.2 Tratamentos e dietas experimentais	24
3.3 Medições no pasto e amostragem dos alimentos.....	26
3.4 Análises bromatológicas	27
3.5 Pesagem e amostragem do leite.....	28
3.6 Consumo de pasto.....	28
3.7 Produção de proteína microbiana.....	30
3.8 Comportamento ingestivo	32
3.9 Metabólitos sanguíneos	33
3.10 Análise Estatística.....	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Características estruturais do dossel forrageiro.....	34
4.2 Características nutricionais dos alimentos	36
4.3 Consumo e produção de leite	37
4.4 Derivados de purinas.....	43
4.5 Comportamento ingestivo	45
4.7 Metabólitos sanguíneos	46
5. CONCLUSÃO	50
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1 INTRODUÇÃO

A produção de leite em sistemas intensivos de pastagens enfrenta desafios nutricionais relacionados à composição bromatológica e ao consumo de forragem. Pastagens bem manejadas, com altas taxas de adubação nitrogenada e manejadas respeitando a fisiologia da planta, produzem forragem com elevado valor nutritivo, muito diferente da composição bromatológica trazida nas tabelas de modelos nutricionais.

Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB) do material de fato colhido pelo animal variam entre 55-60% matéria seca (MS) e 15-20% MS, respectivamente (SANTOS *et al.* 2003). Além disso, a digestibilidade da fibra é alta (LOPES *et al.* 2013), o que contribui para um maior potencial de consumo desse material. Pastagem com essas características pode atender as exigências proteicas de vacas em meio de lactação produzindo ao redor de 20 L d⁻¹, dispensando a necessidade de ingredientes proteicos no concentrado (DANES *et al.*, 2013).

No entanto, vacas de início de lactação e/ou alta produção (ao redor de 30 L d⁻¹) apresentam maior exigência de proteína metabolizável e respondem positivamente à inclusão de ingredientes proteicos no concentrado quando mantidas em pastejo, apesar dos altos teores de PB do Pastagem (CHAGAS, 2011; MALACCO, 2016). Chagas (2011) precisou adicionar farelo de soja à dieta de vacas mestiças (HPB x Jersey) em início de lactação, produzindo 24 L d⁻¹ e pastejando Pastagem elefante com 15,5% PB, para evitar a queda na produção de leite e sólidos observada com o concentrado exclusivamente energético. Já Malacco (2016) observou respostas positivas à substituição de proteína degradável no rúmen (PDR) por proteína não degradável no rúmen (PNDR) no concentrado de vacas mestiças (HPB x Gir), produzindo 37,4 L d⁻¹ pastejando Pastagem Mombaça com 16,5% PB. A adequação proteica da dieta de animais em pastejo deve, portanto, levar em consideração a caracterização da PB do Pastagem, a estimativa de consumo de forragem e a caracterização dos animais sendo alimentados. Não é possível recomendar um único concentrado que funcione em qualquer situação. Além da quantidade, a composição da proteína utilizada no concentrado também precisa ser avaliada. Quando a exigência das vacas por proteína metabolizável é alta, a proteína do pasto passa a ser insuficiente para atendê-la, devido à sua maior disponibilidade ruminal do que no duodeno e à maior quantidade de concentrado ingerida, reduzindo a relação forragem:concentrado da dieta.

A fonte e a qualidade da proteína não degradável no rúmen e dos aminoácidos estão se tornando tão importantes quanto à quantidade de alimento a ser ingerido pelo animal (BRODERICK *et al.* 2008). Sendo assim, a proteína metabolizável precisa ser complementada com ingredientes proteicos no concentrado. Além da quantidade, o perfil de aminoácidos da proteína metabolizável é essencial para atender as exigências para produção de leite e saúde das vacas (NRC, 2001). Além disso, com a manipulação da dieta podemos otimizar a utilização de nitrogênio e reduzir sua excreção, permitindo uma dieta com menor teor de proteína e melhor utilização de nitrogênio pelo animal, sem perder desempenho e podendo reduzir eliminação de potenciais poluentes (LEE *et al.* 2012).

Atualmente o uso de estratégias nutricionais tem crescido e nessa linha o balanceamento de aminoácido como a metionina tem sido estudado por ser o aminoácido mais limitante na maior parte das dietas para vacas em lactação a base de milho e farelo de soja (SCHWAB *et al.* 1976). Em dietas em que o farelo de soja contribui prioritariamente com a proteína não degradada no rúmen, como é o caso de grande parte das dietas para vacas em pastejo, a metionina será mais limitante, já que o teor de lisina na proteína da soja é alto. Além disso, as poucas análises disponíveis de perfil de aminoácidos dos capins tropicais bem manejados também indicam deficiência de metionina (MALACCO, 2016). No entanto, não há estudos avaliando a suplementação com metionina protegida da degradação ruminal (MPR) para vacas de alta produção (ao redor de 30 L d⁻¹) mantidas em pastagens.

A metionina, além de ser um aminoácido usualmente limitante para a produção de leite, possui importantes funções no metabolismo animal, relacionadas principalmente ao ciclo de 1 carbono, já que é precursora do doador universal de grupos metil, S-adenosilmetionina (BROSNAN E BROSNAN, 2006). Este ciclo conecta a metionina ao metabolismo lipídico, já que um dos destinos de grupos metil é a fosfatidilcolina, que formará a membrana das lipoproteínas que exportam gordura do fígado (AUBOIRON *et al.* 1995) e também à síntese de importantes antioxidantes do organismo, como a taurina e a glutatona (ZHOU *et al.* 2016; ZHOU *et al.* 2016).

As vacas em pastejo convivem com altas temperaturas, umidade relativa do ar e radiação incidente, acarretando estresse por calor (NEVES *et al.* 2009), que é uma das causas de estresse oxidativo (BERNABUCCI *et al.* 2005). Dessa forma, a metionina tem potencial de auxiliar as vacas em pastejo a aliviar os efeitos deletérios do calor relacionados ao estresse oxidativo. De fato, a suplementação com metionina melhorou o sistema imune e aliviou o impacto negativo na produção de sólidos de vacas em lactação confinadas submetidas ao estresse por calor (PATE *et al.* 2020). Ainda assim, essa hipótese não foi testada em vacas em pastejo.

Dessa forma, a hipótese deste trabalho é que a suplementação com MPR em dietas para vacas de alta produção mantidas em pastagens melhora o desempenho animal e reduz o estresse oxidativo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produção de leite em pastagem tropical

Sistemas intensivos de produção de leite em pastagens tropicais tem se destacado pelos trabalhos que mostram o potencial da capacidade para elevar produções de leite por área e custos de produção competitivos como fatores determinantes para opção deste sistema (SANTOS *et al.* 2005).

Segundo Santos *et al.* (2003) essas forrageiras destacam-se por apresentarem elevada MS e potencial para altas taxas de lotação. Isso ocorre devido ao seu metabolismo fotossintético, que é mais eficiente na deposição de tecidos em condições de clima tropical, quando comparados a plantas de clima temperado (DE ASSIS, 1997).

A elevada biomassa produzida pelas gramíneas tropicais exige uma estrutura de sustentação mais desenvolvida do que nas plantas de clima temperado, que apresentam menores produções por área. Com isso, o conteúdo fibroso das plantas tropicais é mais elevado (WILSON, 1997).

Segundo Corsi (1990) taxas de acúmulo de forragem acima de 100 kg de MS ha dia⁻¹ têm sido relatadas para diversas espécies forrageiras manejadas intensivamente no período das águas. Esse alto potencial de produção possibilita a exploração intensiva dessas forrageiras, com taxas de lotação que varia de 4 a 10 UA ha⁻¹, durante 150 a 210 dias da estação quente e chuvosa do ano, na maior parte do Brasil central (CORSI, 1986; CORREIA, 2006).

Quadros *et al.* (2002) comparou a produtividade do capim Mombaça e Tanzânia, submetidos à quatro níveis de adubação, encontraram para o Mombaça com adubação de 145, 21,6 e 180 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente referente (1,20; 0,08 e 1,20% de N, P e K na MS da parte aérea, respectivamente, multiplicada pela produção de MS estimada de 12.000 Kg há⁻¹), 8198 Kg de MS ha⁻¹, enquanto o Tanzânia produziu, sob as mesmas condições, 6196 Kg de MS ha⁻¹. Os dois capins responderam positivamente ao aumento das dosagens de NPK, no entanto, os autores concluem que o capim Mombaça apresentou maior

potencial de resposta à adubação com NPK, sugerindo que este seria o mais adequado para sistemas intensivos de produção de ruminantes em pastagem.

Mesmo as forragens tropicais apresentando elevado potencial de produção, existe o questionamento quanto ao valor nutricional da pastagem. Entretanto, grandes avanços sobre práticas de manejo intensivo em pastagens tropicais têm permitido associar boa qualidade nutricional com elevada produção de matéria seca (SANTOS *et al.* 2011).

Visando ter alta produção de forragem com elevado valor nutritivo, a combinação de altas doses de adubação nitrogenada, na ordem de 200 a 500 kg ha ano⁻¹, e menores intervalos de pastejo é recomendado (DA SILVA e CORSI, 2003). Isso confere a gramínea tropical, menores teores de FDN, variando de 55 a 60% e teores mais elevados de PB, variando de 15 a 20% (SANTOS *et al.* 2003).

Uma série de pesquisa foi conduzida por Da Silva e Nascimento Jr. (2006) propondo que a entrada dos animais no pasto seja determinada pelo momento em que o dossel forrageiro atingir 95% de interceptação luminosa (IL). Baseado no valor de 95% IL, alturas de entrada recomendadas para o Capim-Mombaça têm sido 90 cm (CARNEVALLI *et al.* 2006).

Hack (2004) avaliou a produção de leite de vacas mantidas em pastagens de Capim-Mombaça, manejadas com 95% IL e obteve aumento na produção de leite em comparação com os animais mantidos em pastos manejados com intervalo de desfolha fixo, além também da possibilidade de aumentar a taxa de lotação. Essa maior produção de leite pelas vacas mantidas na pastagem com IL 95% foi relacionada à maior proporção de lâminas foliares, pois possuem melhor valor nutritivo que os colmos. Segundo Carvalho *et al.* (2001), pastos mais altos, com lâminas foliares maiores, podem aumentar o tempo de manipulação da forragem a cada bocado e, conseqüentemente, reduzir a ingestão de matéria seca.

Voltolini *et al.* (2010) trabalharam com dois períodos de descanso em pastagem de capim elefante, e encontraram maior taxa de lotação e produção de leite ha⁻¹ na área manejada com período de descanso com 95% IL em relação à área com período de descanso fixo de 26 dias, evidenciando que a forma de manejo com base em dias fixos é menos eficiente no controle das características do pasto e na produção de leite do que o período de descanso que se baseia na interceptação da radiação fotossinteticamente ativa de 95%.

Vacas mantidas exclusivamente em pastagens tropicais produzem somente 2.500 a 3.500 kg de leite ano⁻¹ (VOLTOLINI *et al.* 2008). Cowan (1990), enfatizou que essa produção pode atingir até 4.500 kg vaca ano⁻¹ em pastos de boa qualidade. Segundo Santos *et al.* (2005), mostraram que a combinação de vacas especializadas suplementadas e pastagens bem manejadas permitiram produções entre 4.000 a 7.000 kg de leite ano⁻¹.

Santos *et al.* (2003) revisaram sobre a produção e composição de leite de vacas mantidas exclusivamente em gramíneas forrageiras tropicais e observaram a produção de leite média que foi de 9,10 kg de leite dia⁻¹, variando de 5,0 a 13,7 kg de leite dia⁻¹, com teores médios de proteína, gordura e sólidos totais de 3,2, 3,9 e 12,38 respectivamente. Valores bem próximos foram encontrados por Santos *et al.* (2005) que estudou o capim Tanzânia manejado sob pastejo rotacionado com 33 dias de descanso, sem suplementação com concentrado, e observaram produções médias de leite de 11,1 e 9,4 kg vaca dia⁻¹ para vacas em lactação com 90 a 180 dias e acima de 180 dias, respectivamente.

De modo geral, o fornecimento exclusivo de pastagens tropicais não atende às exigências nutricionais de vacas leiteiras com produções diárias acima dos valores mencionados (SANTOS *et al.* 2003).

Poppi *et al.* (1987) mostrou que o consumo de forragem de animais em pastejo é influenciado por fatores nutricionais e não nutricionais. Os fatores nutricionais tem influência sobre o consumo de forragem pela limitada taxa de digestibilidade, taxa de passagem e concentração de metabólitos nos alimentos. Já os fatores não nutricionais, estão relacionados à habilidade do animal em pastear, com maior importância no consumo de forragem. Segundo Santos *et al.* (2005), o fator determinante que limita a produção de leite de vacas mantidas exclusivamente em pastagens tropicais não é o teor de energia ou proteína dessas plantas, mas limitação na capacidade de ingestão de MS de forragem.

Hodgson e Brookes (1999) observaram três fatores que afeta o consumo de matéria seca de vaca em pastagens: requerimento de nutrientes pela vaca, fatores associados com distensão do trato gastrintestinal e interação pastagem-animal afetando o comportamento de pastejo.

Segundo Van Soest (1965), o fator mais limitante ao consumo do pasto é o teor FDN, sendo que valores superiores a 55-60% na matéria seca tem correlação negativa com o consumo de forragem. O consumo de matéria seca (CMS) de vacas mantidas em pastagens tropicais variou de 6,3 a 14,8 kg de MS vaca dia⁻¹, ou média de 2,37 do PC (SANTOS *et al.* 2003).

Forragens tropicais apresentam baixos teores de carboidratos solúveis e amido, raramente superiores a 20% dos carboidratos totais. Assim, a celulose e hemicelulose representam a fração de maior contribuição energética para o crescimento microbiano pela fermentação ruminal.

Além da dificuldade de ingestão de maiores quantidades de volumoso, os animais consumindo apenas pastagens tropicais enfrentam balanço inadequado de nutrientes no rúmen. Plantas tropicais bem manejadas e adubadas apresentam altos teores de proteína bruta e maior produção de massa de forragem (SANTOS *et al.* 2003). Isso exige maior investimento em

parede celular em detrimento do conteúdo celular, o que ocorre diminuição do teor energético dessa planta. Sendo assim, ocorre limitação energética no rúmen para utilizar toda essa proteína disponível, gerando baixa produção de proteína microbiana, principal fonte de proteína metabolizável de ruminantes mantidos em pastagens (NRC, 1989).

2.2 Suplementação de vacas à pasto

O adequado manejo do pasto possibilita a colheita de material forrageiro de alta qualidade. Porém, o uso exclusivo de forrageiras tropicais não atende as exigências nutricionais nem mesmo de vacas de médio potencial de produção. Suplementar com concentrado nessas condições torna-se ferramenta essencial para suprir os nutrientes em falta e tem como objetivo aumentar o consumo de matéria seca total e de nutrientes, aumentar a produção de leite por animal, aumentar a taxa de lotação e produção de leite por hectare e escore de condição corporal das vacas (REIS e SOUSA, 2008).

Sendo assim, é necessário o uso de suplementação concentrada, para aumentar o fornecimento de nutrientes, potencializando a atividade dos microrganismos ruminais no processo de digestão dos alimentos, com objetivo de atender as exigências nutricionais desses animais em pastejo, possibilitando assim o alcance de altos níveis de produção (SILVA *et al.* 2017).

Segundo Santos *et al.* (2003) pastagens tropicais manejadas intensivamente podem apresentar a relação proteína e energia desproporcional às exigências dos microrganismos ruminais, seja por baixa concentração de energia ou teores elevados de proteína degradável no rúmen nessas forrageiras. Essa ausência no sincronismo ruminal entre carboidratos e compostos nitrogenados no ambiente ruminal pode desencadear menor eficiência na síntese de proteína microbiana. Em muitos casos, torna-se necessário o uso de fontes alimentares suplementares, ricas em carboidratos não fibrosos, para suprir as demandas energéticas dos microrganismos ruminais, melhorando o aproveitamento dos compostos nitrogenados e, conseqüentemente, estimulando a síntese de proteína microbiana.

De acordo com o NRC (2001), por exemplo, o consumo exclusivo de 12 kg de MS de pasto tropical com 63,3% de NDT, gerou energia líquida para produções de 10 a 11 kg de leite, com 3,8% de gordura e 3,2% de proteína bruta, no entanto, gerou proteína metabolizável para produções de 12 a 15 kg de leite, com variação nos teores de PB de 14 a 20% respectivamente.

Segundo Abreu *et al.* (2013) a estratégia da suplementação concentrada tem por finalidade melhorar o consumo e a eficiência de utilização dos nutrientes dos alimentos pelos

animais ruminantes. Sendo assim, em sistemas de produção especializados é comum a prática de suplementação concentrada com inclusão de alimentos energéticos e/ou proteicos, com o objetivo de melhorar o desempenho de vacas de média a alta produção de leite (KROLOW *et al.* 2014).

Nesse sentido, Silva *et al.* (2017), observaram que vacas leiteiras mantidas em pastejo tropical com diferentes estratégias de suplementação (suplementação energética, suplementação proteica, suplementação múltipla e mistura mineral) tiveram aumento na produção de 19,51% em relação aos animais que não receberam suplemento concentrado.

Segundo Bargo *et al.* (2003) quando vacas mantidas em pastagens são alimentadas com suplementos, a ingestão de matéria seca de forragem geralmente diminui, o que é conhecido como taxa de substituição (relação entre kg de forragem consumida a menos por kg de concentrado consumido a mais).

A prática de suplementação proteica de bovinos a pasto, principalmente, no período das águas, aumenta a eficiência de utilização do pasto pois proporciona maiores concentrações de nitrogênio amoniacal no rúmen, resultando no aumento do balanço de nitrogênio (COSTA *et al.* 2011). Miranda *et al.* (2015) corroboram que tal resposta na eficiência de utilização da forragem é devido a disponibilidade de amônia ruminal para as bactérias fibrolíticas, as quais utilizam esse substrato como exclusiva fonte de N.

A disponibilidade ruminal de energia e N afetam diretamente a síntese de proteína microbiana no rúmen (CLARK *et al.* 1992), sendo a ingestão de energia o principal fator limitante para produção de leite de vacas em pastagens tropicais adubadas com nitrogênio, maior ênfase deve ser dada à suplementação energética (VERBIC, 2002).

A suplementação energética é fundamental para bovinos leiteiros, pois a energia é reconhecida como o “nutriente” de maior demanda para as funções biológicas, principalmente, para os animais em lactação que possuem maior exigência. Portanto, quando tratamos da utilização de suplementos energéticos para suprir as exigências nutricionais dos animais, a exemplos de grãos e raízes, o amido, constituinte da composição química desses alimentos, apresenta-se como fonte principal de energia em que devido sua estrutura molecular, torna-se mais disponível energeticamente comparado aos carboidratos estruturais ofertados nas dietas de bovinos (SILVA *et al.* 2015).

A economicidade da utilização de suplemento concentrado para bovinos de leite está correlacionada com o aumento da produção de leite em resposta ao fornecimento de concentrado na dieta (PIMENTEL *et al.* 2006). Segundo Schio *et al.* (2011) essa relação, kg de leite produzido para cada kg de concentrado fornecido é utilizado como um indicador de

viabilidade econômica da prática de suplementação concentrada, devendo considerar o preço do concentrado e do leite, sendo o suprimento de deficiências nutricionais das pastagens através do uso de suplemento concentrado possibilita melhorias no desempenho de animais ruminantes.

2.3 Aminoácidos para vacas leiteiras

As exigências metabólicas dos ruminantes não são por proteína bruta, nitrogênio não proteico, PDR ou PNDR, mas sim por aminoácidos (ALVES, 2004). Os aminoácidos devem estar disponíveis para os tecidos em proporções e quantidades adequadas para eficiência máxima (SANTOS, 2006), já que os tecidos dos ruminantes necessitam de aminoácidos para seu metabolismo.

As exigências proteicas dos ruminantes são atendidas mediante a absorção intestinal dos aminoácidos provenientes, principalmente, da proteína microbiana sintetizada no rúmen e da proteína dietética não degradada no rúmen (SANTOS, 2006). Segundo o NRC (2001), as exigências para PDR, PNDR e Proteína Total (PT) dependem de fatores intrínsecos ao animal, a concentração de energia disponível na dieta e consumo de matéria seca. Recomendações acerca da proporção de PDR e PNDR nas fontes proteicas e dietas fornecidas para os animais são reportadas na literatura. Segundo o NRC (1989) recomenda-se de 35 a 40% de PDR com base no total de PB.

A proteína microbiana é a principal fonte de proteína metabolizável (50-80%) é absorvida no intestino delgado de vacas leiteiras (STORM E ORSKOV, 1983). A proteína microbiana é considerada uma proteína de alta qualidade devido á sua alta digestibilidade e composição de AA (SCHWAB E BRODERICK, 2017).

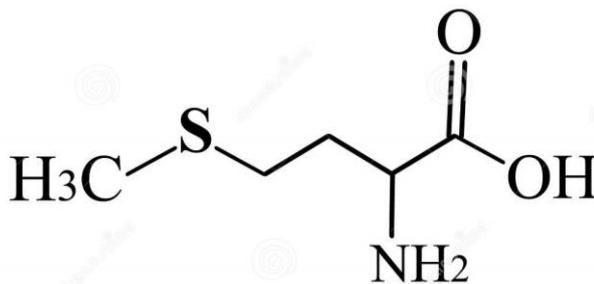
A síntese de proteína microbiana requer grandes quantidades de energia para a síntese de proteína a partir de AA, sendo inferior a 75% (WU, 2013). Portanto, muita atenção tem sido colocada no desenvolvimento de AA protegidos no rúmen para escapar da degradação ruminal e fornecer aminoácidos de alta qualidade e disponíveis na nutrição de ruminantes.

Para que se possa maximizar o desempenho da lactação, com teor de PB mais baixo na dieta é necessário otimizar o balanço total de aminoácidos na proteína metabolizável. Isso possibilitará a redução da eliminação de nitrogênio na urina por unidade de leite produzido, bem como poupar energia metabólica para a produção de leite ou outras funções do corpo (SOCHA *et al.*, 2008).

2.4 Metionina

Segundo Schwab *et al.* (1976), demonstraram que metionina e lisina são os AA mais limitantes nas rações de vacas leiteiras para a produção de leite e secreção de proteína. Rulquin *et al.* (1993) trabalhou com infusões pós ruminal de AA individuais ou lisina e metionina protegidos, e concluiu que na grande maioria das rações, lisina e metionina são os dois primeiros AA limitantes.

Metionina foi o primeiro AA limitante para a produção de proteína do leite quando vacas leiteiras foram alimentadas com dietas com alta proporção de forragem ou proteína de soja e a ingestão de PNDR foi baixa. Portanto, ficou evidenciado que a metionina é o primeiro AA limitante quando a maior parte da proteína sobrepassante (By-pass) é oriunda de farelo de soja (ARMENTANO *et al.* 1993; RULQUIN E DELABY, 1994).



Fonte: Biomedicina Padrão

FIGURA 1. Estrutura química de uma molécula de metionina

Segundo Pisulewski *et al.* (1996) balancear dietas de vacas leiteiras baseado em suprimento adequado de metionina digestível tem efeito positivo na secreção de proteína do leite, aumentando a concentração e a produção. O aumento consistente na secreção protéica do leite, observado como resultado da melhoria do suprimento de metionina passível de ser absorvida é devido a um aumento na caseína do leite, ou seja, um aumento na produção de proteína verdadeira do leite.

A metionina pode ser biotransformada em sua forma doadora ativa de grupos metil (CH₃), a S-Adenosilmetionina (SAM), que por sua vez consegue transferir tal grupamento para outros compostos como, por exemplo, ser utilizado para metilar fosfatidiletanolamina e gerar fosfatidilcolina, que é essencial para a síntese de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e metilação do DNA (OSORIO *et al.* 2013). A SAM pode realizar uma biotransformação na homocisteína, a qual é precursora de duas substâncias antioxidantes: a glutatona e a taurina.

Isto por sua vez acaba gerando um aumento na produção de enzimas antioxidantes (CHANDLER e WHITE, 2017).

Animais que foram suplementados com doadores do grupo metil tiveram aumento da produção de leite e benefícios para a saúde durante o período de transição (OSORIO *et al.* 2014; ZOM *et al.* 2011).

Segundo Osorio *et al.* (2014), estudos mostraram que a suplementação com metionina durante o periparto apresentou efeitos positivos nos leucócitos, aumentando a capacidade de fagocitose de neutrófilos, que é a primeira linha de defesa na imunidade animal. Zhou *et al.* (2016), detectou que a suplementação de metionina, promoveu maior capacidade de “burst” oxidativo (explosão respiratória) do primeiro dia do pós-parto até ao o 28º pós-parto.

Osorio *et al.* (2013) e Zhou *et al.* (2016) mostraram que há aumento da proteína do leite com a suplementação de metionina protegida para vacas em lactação. Portanto, espera-se uma resposta positiva no teor e na produção de proteína no leite quando se tem um maior suprimento na dieta de metionina metabolizável. No entanto, em muitos casos, a resposta em desempenho não é consistente, uma vez que depende da dieta basal, do estágio da lactação, do tipo do suplemento de metionina utilizado, da ocorrência de outros nutrientes limitantes, entre outros (PATTON, 2010)

Segundo Vailati-Riboni *et al.* (2017) a suplementação com metionina protegida melhorou a resposta aos lipopolissacarídeos (LPS), que é componente das paredes das células das bactérias, controlando a capacidade inflamatória das células imunitárias. Segundo Martínez *et al.* (2017) a metionina pode regular os processos metabólicos, ambiente uterino e sistema imunológico de mamíferos.

Zhou *et al.* (2016) ressaltaram o efeito positivo da metionina sobre o CMS. Em comparação aos grupos controle, animais suplementados apresentaram ingestão superior tanto no período pré-parto, como no pós-parto. Esses achados são de grande relevância uma vez que um maior CMS neste período é benéfico, pois reduz a incidência de cetose e outras desordens metabólicas associadas, além de promover maior produção de leite. Aumentos no CMS e na produção de enzimas antioxidantes podem ser os principais responsáveis pelo aumento na atividade de células do sistema imune, sobretudo neutrófilos (OSORIO *et al.* 2013; OSORIO *et al.* 2014).

A direção e a magnitude de resposta frente à suplementação com metionina dependem de muitos fatores, como: estágio da lactação (SCHWAB *et al.* 1992), da suplementação de metionina utilizada (PATTON, 2010), da composição da dieta (PHIPPS *et al.* 2008), da ocorrência de outros nutrientes limitantes (BERTHIAUME *et al.* 2001), da capacidade da

glândula mamária (BURGOS *et al.* 2010) e de outros fatores relacionados ao animal e de manejo.

A proteção dos Aas livres da degradação ruminal começou na década de 1960, onde os pesquisadores começaram a estudar a importância do correto balanceamento de AA, para atender os requisitos de vacas em lactação (SCHWAB e BRODERICK, 2017).

O primeiro suplemento de metionina protegida da degradação ruminal foi desenvolvido por Delmar Chemicals (LaSalle, QC, Canadá). O produto consistia de um núcleo com 20% DL-Met, caulim coloidal e tristearina (SCHWAB AND BRODERICK, 2017). O produto DL-Met encapsulado quando alimentado a vacas em lactação a 5, 15 e 45 g d⁻¹ não teve efeito na produção de leite e na sua composição (BRODERICK *et al.* 1970). Porém, concentrações plasmáticas de metionina aumentaram nas taxas de suplementação mais altas (BRODERICK *et al.* 1970).

Desde essa pesquisa inicial do fornecimento de metionina protegida da degradação ruminal, muitos estudos foram feitos para aumentar a proteção ruminal de produtos à base de metionina. Nas décadas de 1980 e 1990, análogos e derivados de metionina foram feitos para encontrar alternativas ao encapsulamento. Os análogos e derivados da metionina fornecem a precursores para conversão enzimática em Met. No entanto, a triagem não foi bem sucedida, e atenção foi novamente focada na melhoria das tecnologias de encapsulamento (SCHWAB AND BRODERICK, 2017).

Existem três fontes de metionina exógena para suplementação: metionina análoga HMB ou HMTBa (ácido 2-hidroxi-4-metiltio-butírico), ocorrendo um processo de biotransformação por parte dos microrganismos do rúmen, onde há a produção de metionina; metionina análoga HBMi, que seria o éster isopropílico de HMB, o qual foi criado para aumentar a sua proteção e garantir maiores níveis de metionina metabolizável. Como principais exemplos de produtos comerciais a base de metionina análoga, pode-se citar o Alimet ou MFP (HMB da Novus, Estados Unidos) e o Metasmart (HMBi da Adisseo, França). E a terceira fonte é a metionina protegida ruminalmente, que é revestida por encapsulamento, e é absorvida somente no tecido intestinal, tendo, portanto, uma maior quantidade de metionina metabolizável (OSORIO *et al.* 2013).

O pastejo ocorre durante o verão, quando o estresse por calor se torna um problema importante. A alta radiação incidente, juntamente com altas temperaturas e umidade relativa do ar, geram desconforto térmico e levam ao estresse calórico nos animais em pastagens (Neves *et al.* 2009). Sendo assim, a metionina pode atuar no metabolismo lipídico e ativação de enzimas

antioxidantes, tais como metionina sulfóxido redutase A e biossíntese da glutatona, moléculas importantes contra o estresse oxidativo.

2.5 Comportamento ingestivo de vacas leiteiras à pasto

O comportamento ingestivo de bovinos em pastejo é um processo complexo, que envolve características da planta, animal e ambiente, porém as características estruturais da forrageira ganham um destaque nesse processo (CARVALHO *et al.*, 2001; DA SILVA E CARVALHO, 2005; DONALD, 1986). Segundo Euclides *et al* (2014) a estrutura do pasto é um fator determinante no comportamento ingestivo de animais em pastagens, pois o animal ajusta seu comportamento, até um certo limite, em decorrência da estrutura da pastagem, principalmente em situações desfavoráveis.

Segundo Allden e Whittaker (1970) o consumo de forragem sob condições de pastejo também é função de variáveis associados ao comportamento ingestivo do animal, que são: taxa de bocado, massa de bocado e tempo de pastejo. Taxa de bocado é a quantidade de bocados feita durante um período de tempo, ou seja, relaciona-se a velocidade de ingestão. Massa ou tamanho do bocado refere-se à quantidade de forragem que é ingerida a cada bocado. O tempo de pastejo engloba o tempo de locomoção do animal para encontrar bocados, sua facilidade de colheita e o tempo de manipulação para formação e deglutição do bolo alimentar (REIS e DA SILVA, 2006).

Existem diversos fatores que exercem influência sobre o comportamento ingestivo, sendo eles relacionados ao próprio animal, ao ambiente, a forragem disponível e ao manejo. Segundo Silva, (2006) essas variáveis alteram as características morfológicas e fisiológicas do dossel forrageiro, modificando os padrões de respostas de planta e animais.

O tempo gasto por animais em pastejo pode variar de 6 a 12 horas (HODGSON, 1990) ou de 4 a 14 horas por dia (PIRES *et al.*, 1997), sendo fator determinante a quantidade e a qualidade da forragem disponível, existência ou não de suplemento concentrado e variáveis climáticas. De acordo com Ribeiro *et al* (2012), o tempo destinado ao pastejo de bovinos não deve ultrapassar de 12 a 13h, vez que tempos acima desses valores podem influenciar negativamente as atividades ruminais dos animais.

Em condições de pastejo, as vacas apresentam comportamento típico, com picos de alimentação ao amanhecer e ao anoitecer, observando que esse padrão é mais intenso durante o verão (ALBRIGHT, 1993).

Segundo Rodrigues *et al* (2013), a taxa de bocado é uma das ferramentas utilizadas para determinar o comportamento de ingestão de forragem pelos animais em pastejo. A taxa de bocado é uma variável que é correlacionada negativamente à massa do bocado, pois quanto maior a massa do bocado realizada pelo animal menor será a taxa, porque os movimentos mandibulares de manipulação (apreensão e mastigação) serão maiores.

A composição botânica e estrutura do dossel podem exercer um efeito direto sobre o consumo de forragem dos animais em pastejo, independente da influência da sua composição química e conteúdo de nutrientes (HODGON, 1990).

Segundo Reis e Da Silva, (2011) a massa de forragem, densidade, altura, colmo, baixo teor de fibra das folhas são características da estrutura do pasto que determinam os mecanismos utilizados pelos animais durante o pastejo, interferindo o tempo de pastejo.

Entende-se como bocado o ato de aprender a forragem. Segundo Carvalho e Morais, (2005) o consumo total é a quantidade de forragem ingerida devido a frequência de bocados, executados pelos animais e está diretamente relacionado com o desempenho

A ingestão de forragem por bocado é bem sensível a variações estruturais, principalmente em altura do dossel forrageiro (COSGROVE, 1997). Segundo Hodgson, (1985) o tamanho do bocado é a variável mais importante na determinação do consumo de animais em pastejo e a mais influenciada pelo dossel forrageiro.

Em condições de baixa oferta de forragem, o animal tende a aumentar o tempo de pastejo e a frequência de bocados para atender a demanda diária de ingestão de MS (GORDON E LASCANO, 1993).

Dentre as variáveis que afetam a profundidade do bocado há as características estruturais do dossel como altura, estrutura e massa de forragem (BURNS e SOLLENBERGER, 2002). As dimensões do bocado (área e profundidade) de animais em pastejo são importantes tanto para a planta quanto para o animal. No caso das plantas, elas definem a profundidade e área da camada de forragem removida, definindo a intensidade e o padrão espacial de desfolhação (EDWARDS *et al.* 1995).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

O experimento foi realizado em uma fazenda comercial no município de Monsenhor Paulo, Minas Gerais (898 m de altitude, 21°45' de latitude sul, 45°32' de longitude oeste), no

período de 01 de janeiro a 04 de março de 2021. O clima é caracterizado por duas estações bem definidas: período seco, de abril a setembro e período chuvoso, de outubro a março. A média anual de temperatura é de 20,8° C, sendo a média máxima de 26,5 °C e a mínima de 14,1° C.

3.2 Tratamentos e dietas experimentais

Todos os procedimentos realizados no experimento foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA — UFLA), sob o protocolo nº 036/20. Vinte e quatro vacas multíparas F1 HBP x Gir com 100 ± 55 dias em lactação (DEL), produzindo em média $31,0 \pm 4,8$ kg d⁻¹ e com 590 ± 47 kg de PC foram utilizadas em um delineamento de blocos casualizados por 9 semanas. As vacas foram blocadas por produção de leite e DEL e dentro de cada bloco foram aleatoriamente distribuídas entre dois tratamentos. O tratamento controle (CON) constituiu de concentrado composto por milho moído seco, farelo de soja, caroço de algodão, polpa cítrica e mistura mineral e vitamínica, formulado para atender às exigências de proteína metabolizável e energia das vacas (AMTS), sem suplementação (COM) com metionina protegida da degradação ruminal (MPR). O tratamento metionina (MPR) recebeu o mesmo concentrado do tratamento CON, adicionado de MPR (Smartamine M®) na dose calculada para atingir a relação 2,8:1 de lisina:metionina metabolizáveis, de acordo com o AMTS.

As vacas foram mantidas em piquetes de capim Mombaça (*Panicum maximum* cv Mombaça), manejados sob lotação rotativa, com altura de entrada alvo de 90 cm (correspondente à 95% de interceptação luminosa, Carnevalli *et al.*, 2006). Os animais dos dois tratamentos pastejaram juntos e foram mantidos por um dia em cada piquete de aproximadamente 2.000 m², sendo o acesso ao novo piquete após a ordenha da tarde. Logo em seguida, quando necessário, um lote de repasse entrava no piquete para manter o rebaixamento adequado até a altura final (50 cm). Os piquetes foram adubados na saída dos animais e o período de descanso médio, que foi condicionado pela altura do pasto, ficou em 20 ± 7 dias. Após cada ciclo de pastejo, foi realizada a adubação nitrogenada com 30 kg ha⁻¹ de N, com o adubo 19-04-19 de N-P-K.

As dietas formuladas estão apresentadas na TABELA 1. O concentrado foi fornecido em cochos individualizados e com canzil (FIGURA 2) fracionado em três ofertas diárias, após as duas ordenhas (05h30 e 14h30) e às 11h. A quantidade de concentrado oferecido por vaca (kg dia⁻¹) foi estabelecida de acordo com a produção média do bloco no início do experimento, com base na relação de 1 kg de matéria natural de concentrado para cada 2,7 L de leite

produzido por dia. As quantidades fornecidas foram ajustadas no início da semana 4 e da semana 7, após as coletas de leite das semanas 3 e 6, para evitar excesso de concentrado e potencial depressão de gordura no leite. As vacas permaneceram cerca de 30 minutos com acesso individual ao concentrado e posteriormente foram conduzidas aos piquetes (após as duas ordenhas) ou às áreas de sombra (após a refeição das 11h).

TABELA 1. Ingredientes, composição química e nutricional das dietas experimentais de vacas leiteiras a pasto suplementadas ou não com metionina protegida no rúmen (Smartamine M®)

	CON	MET
<i>Ingredientes, % da MS</i>		
Pasto	47	47
Polpa de citrus	7,5	7,5
Milho moído	27,5	27,5
Farelo de soja	6	6
Caroço de algodão	10	10
Núcleo mineral vitamínico ¹	2	2
Metionina protegida	0	0,06
<i>Composição, % da Matéria Seca</i>		
Proteína bruta	18,6	18,6
Proteína degradável no rúmen (PDR)	12,1	12,1
Proteína não degradável no rúmen	6,5	6,5
FDN	40,6	40,6
FDA	22,2	22,2
FDN da forragem	28,7	28,7
EL (Mcal/Kg)	1,66	1,66
CNF	29,5	29,5
<i>PDR e PNDR, g/d²</i>		
Balanço de PDR	401	401
Balanço de PM	7	14
Lis (g/d)	181	181
Lis (%MP)	6,5	6,5
Met (g/d)	41	48
Met (%MP)	1,87	2,20
Relação lis:met	3,46	2,96

¹Suplemento mineral vitamínico: 13,5% Ca; 5,0% P; 2,9% Mg; 4,7% K; 9,3% Na; 4,0% S; 5,3 ppm Co; 300 ppm Cu; 650 ppm Fe; 25,6 ppm I; 1.530 ppm Mn; 12 ppm. Se; 2.040 ppm Zn; 165.000 UI Vitamina

A; 50.000 UI Vitamina D; 1.000 UI Vitamina E; 28 ppm Biotina. ²Valores estimados pelo NRC (2001), usando consumo de matéria seca, produção e composição do leite e peso corporal das vacas antes do início do experimento.



FIGURA 2 – Fornecimento individual do concentrado no experimento

3.3 Medições no pasto e amostragem dos alimentos

Altura de entrada e saída dos animais experimentais nos piquetes foi monitorada diariamente, com auxílio de uma régua de madeira, sendo determinada como a média de 40 pontos medidos por piquete, em caminhamento ziguezague. A altura final de cada piquete, após a saída dos animais do experimento, também foi monitorada.

A massa de forragem na entrada e saída dos animais foi determinada em três dias consecutivos nas semanas 3, 6 e 9 do período experimental, nos piquetes utilizados no dia da coleta, cortando a planta a 5 cm do solo, com auxílio de uma faca de serra grande. A moldura utilizada na coleta apresentou dimensões de 1 m x 1 m, segundo proposto por Penati *et al.* (2001), e a amostragem foi feita em quatro pontos com altura média do piquete. O material foi colocado em sacos, pesado *in natura*, homogeneizado e duas subamostras foram retiradas.

A primeira subamostra de aproximadamente 300 g foi picada e utilizada para determinação do teor de MS (estufa 55° C por 72 h). A segunda subamostra de aproximadamente 300 g foi utilizada para determinação da composição morfológica do dossel, sendo separada em lâmina foliar, colmo e material senescido. O tecido foi considerado senescido quando mais de 50% de sua área já havia entrado em senescência, isto é, estiver amarelo e seco. As amostras de cada componente foram secas em forno micro-ondas, segundo

metodologia descrita por Lacerda *et al* (2009) para determinação da composição morfológica em % da MS. Na FIGURA 3 podemos ver a metodologia utilizada para medição do dossel e separação da massa de forragem.



FIGURA 3 – Monitoramento da altura de saída e entrada, massa de forragem e subamostra separada para composição morfológica do dossel

Amostras de forragem foram coletadas na forma de pastejo simulado, uma vez por semana, duas vezes por dia, após cada ordenha, com o objetivo de obter amostras representativas de diferentes estratos do dossel forrageiro. Nas semanas 3, 6, e 9, o pastejo simulado foi realizado em três dias na semana, junto com as coletas de fezes e urina. As amostras coletadas foram congeladas a -20°C para análise bromatológica. Da mesma forma, amostras dos ingredientes dos concentrados foram coletadas nas semanas 3, 6 e 9 e submetidas às análises bromatológicas. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Produção Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA. Os ingredientes dos concentrados, foram moídos em moinhos tipo Willey em peneiras com malhas de 1 mm. As amostras de forragem foram levadas à estufa de circulação de ar forçada, mantidas à 55°C por 72 horas e moídas em moinhos tipo Willey em peneiras com malhas de 1 mm.

3.4 Análises bromatológicas

As amostras de alimentos foram então secas em estufa a 105° por 24 h para determinação dos teores de MS. Sequencialmente, determinou-se as cinzas por incineração da amostra em mufla a 600°C segundo a AOAC (1990). O teor de extrato etéreo (EE) foi obtido com extrator Goldfish em éter de petróleo (AOAC 2005). Teor de PB foi analisado pelo método Kjeldahl (AOAC, 1995), FDN (sem sulfito e com amilase para todas as amostras), FDA segundo Van Soest *et al.* 1991. Os resíduos das análises de FDN e FDA foram submetidos à determinação de cinzas e PB para obtenção dos valores de proteína insolúvel em detergente

neutro (PIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA). Esses valores foram usados para corrigir a FDN e a FDA para cinzas e proteína.

O NDT (nutrientes digestíveis totais) dos alimentos foi calculado a partir da equação proposta por Weiss (1992). A porcentagem de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculada pela seguinte equação proposta pelo NRC (2001): $100 - ((\% \text{FDN} - \% \text{FDNPB}) + \% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{cinzas})$.

3.5 Pesagem e amostragem do leite

Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia, às 05h30 e às 14h30, em sistema de ordenha mecânica com contenção do tipo espinha de peixe, duplo oito, com extratores automáticos. A produção de leite foi mensurada diariamente em medidores eletrônicos (GEA Farm Technologies Inc.).

Amostras de leite foram coletadas durante três dias consecutivos, nas semanas 3, 6 e 9 do período experimental. Amostras individuais do leite das ordenhas da manhã (2/3 do volume do frasco) e da tarde (1/3 do volume) foram coletadas com auxílio de coletor acoplado a linha do leite, acondicionadas em frascos plásticos com conservante 2-bromo-2-nitropropane-1,3 diol (bronopol), homogeneizadas e mantidas sob refrigeração (4° C), e logo em seguida foram enviadas para a Clínica do Leite (Piracicaba, SP). Amostras foram analisadas quanto ao teor de gordura, proteína bruta, lactose, caseína, nitrogênio uréico do leite (NUL), sólidos totais e contagem de células somáticas pela metodologia de espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier pelo equipamento Milkoscan FT™ (FOSS).

A produção de sólidos do leite foi calculada com a produção de leite correspondente aos dias de coleta. A produção de leite corrigida para energia (LCE) foi calculada pela equação:

$$\text{LCE} = \text{secreção de energia no leite} / 0,70 \text{ (assumindo } 0,70 \text{ mcal/kg para leite com } 3,7\% \text{ de gordura, } 3,2\% \text{ proteína e } 4,6\% \text{ de lactose), em que: secreção de energia no leite} = [(0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ lactose})] \times \text{kg de leite (NRC, 2001).}$$

3.6 Consumo de pasto

Consumo de pasto foi estimado a partir da produção total de fezes (PTF), determinada por meio do marcador externo dióxido de titânio (FERREIRA *et al.* 2009; SAMPAIO *et al.* 2011). Durante nove dias nas semanas 3, 6 e 9 do período experimental, todas as vacas receberam 10 g d⁻¹ de dióxido de titânio, divididos em dois fornecimentos diários e ministrados

oralmente em péletes de 5 g cada, envolvidos em papel toalha. Nos últimos 3 dias de fornecimento de titânio (quarto, quinto e sexto dia de cada uma das semanas de coleta), foram coletadas amostras individuais de fezes, em torno de 500 g animal⁻¹, diretamente da ampola retal, três vezes ao dia, que foram acondicionados em sacos plásticos, congeladas a -20°C e depois analisadas para concentração de dióxido de titânio. As amostras de fezes foram descongeladas e uma amostra composta formada, por vaca por período de coleta e secos em estufa de ventilação forçada, a 55°C até atingirem peso constante. As amostras secas foram moídas em moinho de facas tipo Willey, com peneira de 1 mm e analisadas para MS e para dióxido de titânio.

O teor de dióxido de titânio foi determinado segundo Myers *et al.* (2004). Uma amostra de 1,5 g de fezes foi digerida com 30 mL de ácido sulfúrico, por 2 horas, a 400° C, em tubos para determinação de proteína (macro). Após a digestão, 10 mL de H₂O₂ (30%) foram adicionados lentamente e o material do tubo transferido para um béquer e completado com água destilada até 100 ml. Logo após esse procedimento, o material do béquer foi transferido para balões de 100 mL e mais 3 gotas de H₂O₂ (30%) foram adicionadas. Uma curva padrão foi preparada com as seguintes quantidades: 0, 2, 4, 6, 8 e 10 mg de dióxido de titânio. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro ajustado ao comprimento de onda de 410 nm.

A produção total de fezes foi calculada pela equação:

$$\text{Excreção fecal (kg MS/dia)} = \frac{\text{quantidade do marcador administrada (g)}}{\text{concentração do marcador nas fezes (g/kg MS)}}$$

A digestibilidade do concentrado e da pastagem, necessária também para o cálculo do consumo, foi determinada a partir da concentração de FDNi (resíduo da incubação ruminal por 12 dias) nos alimentos e nas fezes de cada animal. Para realização da incubação ruminal (*in situ*), foram confeccionados sacos com 5x5 cm de tecido não tecido (TNT) de densidade 100 g cm⁻². Os sacos de TNT, antes de receber as amostras, foram lavados em solução detergente neutro (Mertens, 2002) por 15 minutos, depois lavados com água quente e acetona para evitar contaminação dos resíduos. Para secagem utilizou-se a estufa de ventilação forçada a 60° C por 24 horas e em seguida os sacos foram colocados em estufa não ventilada a 105° C por 1 hora para pesagem e identificação. As amostras foram moídas a 2 mm para este ensaio, com exceção do capim, cujas amostras estavam moídas a 1 mm.

Foi pesado cerca de 0,5 g de cada amostra e acondicionada nos saquinhos, que foram então selados colocados em saco multifilamento e incubados em uma vaca fistulada no rúmen. O saco foi incubado juntamente com uma rosca metálica, permitindo assim a imersão total das amostras no líquido ruminal. Essa vaca estava sendo mantida no local do experimento e recebendo silagem e concentrado no cocho. Após 288 horas de incubação in situ, os saquinhos foram retirados do rúmen e lavados com água corrente até total clareamento. Posteriormente, os sacos foram tratados com detergente neutro (Mertens, 2002) por 1 hora, em autoclave, lavados com água quente e acetona, secos e pesados, para quantificação da FDN não-digerida.

A quantidade de fezes proveniente do concentrado foi calculada a partir do consumo de concentrado e a média ponderada do FDNi dos ingredientes. O valor obtido foi descontado da produção fecal total (PTF) para a estimativa do consumo de forragem. Sendo assim, o consumo de pasto foi calculado com a equação:

$$\text{Consumo de pasto (Kg MS/dia)} = \frac{\text{PTF} - \text{PF concentrado (kg)}}{(1 - \text{digestibilidade do capim})}$$

3.7 Produção de proteína microbiana

A produção de proteína microbiana foi estimada com base na concentração de derivados de purina presentes na urina de cada animal (CHEN & GOMES, 1992). A urina de todas as vacas foi coletada três vezes ao dia, durante 3 dias, nos mesmos dias de coleta de fezes. A coleta foi feita por estímulo na vulva, no momento do fornecimento dos concentrados. Logo após a coleta, alíquota de 5 ml de urina foi retirada e acidificada com 20 ml de uma solução contendo ácido sulfúrico (0,072 N), com o objetivo de reduzir o pH das amostras para menos de 3, totalizando no final de cada período de coleta, 45 ml de urina e 180 ml do ácido (FIGURA 4). Após a acidificação, as amostras foram congeladas a -20°C até o momento das análises.



FIGURA 4 – Recipientes individuais de urina (5 ml) e recipientes com a coleta total por período (45 ml)

As concentrações de ácido úrico e creatinina excretados na urina foram determinadas utilizando o sistema colorimétrico com reação do ponto final utilizando kits comerciais (Bioclin 1483 para ácido úrico e Bioclin K016 para creatinina), de acordo com as instruções do fabricante. A determinação das concentrações de alantoína foi feita segundo a técnica descrita por Chen e Gomes (1992) e analisadas por colorimetria a 522 nm.

A concentração de creatinina foi utilizada para estimar o volume de urina produzido diariamente, assumindo-se que a excreção diária de creatinina é função constante do peso do animal (CHIZZOTTI *et al.* 2008). Para vacas adultas, Valadares *et al.* (1999) encontraram valor de 29 mg por kg de PC que foi adotado nesse estudo. Sendo assim, o volume diário de urina foi calculado com a equação:

$$\text{Volume de urina (L/d)} = \frac{\text{excreção diária de creatinina (mmol/d)}}{\text{concentração de creatinina na urina (mmol/L)}}$$

A partir do volume de urina e das concentrações de alantoína e ácido úrico, foi calculada a excreção diária de derivados de purina (DP). Os cálculos para estimativa de produção de proteína microbiana a partir da excreção de DP seguiu as recomendações de Chen e Gomes (1992), em seu manual prático sobre a técnica.

O primeiro passo foi estimar a quantidade de purinas absorvidas (Pabs), a partir da equação:

$$\text{Pabs (mmol/d)} = \frac{\text{excreção DP (mmol)} - (\text{contribuição endógena (mmol)})}{\text{recuperação das Pabs como DP na urina}}$$

A contribuição endógena adotada no cálculo foi de 0,512 mmol (kg de peso metabólico)⁻¹ para as vacas em lactação (GONZALEZ-RONQUILLO *et al.* 2003).

A partir da quantificação das purinas absorvidas, foi calculado o nitrogênio microbiano (Nm_{micr}) produzido no rúmen, de acordo com a equação:

$$N_{\text{micr}} \text{ (g/d)} = \frac{\text{Pabs (mmol/d)} \times \text{quantidade de N nas purinas (g/mmol)}}{\text{Relação Npurina: Ntotal} \times \text{digestibilidade purinas microbianas} \times 1000}$$

Assume-se que a quantidade de N das purinas é constante e igual a 70 mg N mmol⁻¹ e que a digestibilidade intestinal das purinas microbianas é de 83% (CHEN; GOMES, 1992). A relação entre o nitrogênio contido nas purinas e o nitrogênio total dos microrganismos é diferente para cada tipo de microrganismo. Zinn e Owens (1986), ao desenvolverem a técnica das purinas para quantificação de contaminação microbiana em resíduos de incubação in situ, obtiveram relação Npurina:Ntotal de 0,149 para microrganismos ruminais. O nitrogênio microbiano multiplicado por 6,25 fornece o valor de proteína microbiana produzida diariamente.

3.8 Comportamento ingestivo

As observações visuais do comportamento animal foram realizadas por 24 horas consecutivas no primeiro dia das semanas 3, 6 e 9 do experimento. Durante este período, o número de vacas por tratamento realizando cada atividade foi registrado a cada 10 minutos. Para melhor visualização noturna, foram utilizadas lanternas e as vacas foram identificadas com tinta fluorescente (FIGURA 5). As variáveis comportamentais estudadas foram: ócio em pé (OP), ócio deitado (OD), ruminando em pé (RP), ruminando deitado (RD), pastejando(P), recebendo concentrado(C) ou bebendo água(A).



FIGURA 5 – Identificação das vacas CON e MET durante as observações visuais.

3.9 Metabólitos sanguíneos

Amostras de sangue foram coletadas no último dia das semanas 3, 6 e 9 do experimento, uma vez ao dia, antes de receberem o concentrado das 11 h, através da punção de vaso coccígeo, em tubos com ativador de coágulo e gel separador para coleta de soro e tubos com anticoagulante (heparina de sódio) para coletas de plasma. As amostras foram centrifugadas (3.000 rpm) por 30 minutos à temperatura ambiente para obtenção do soro ou plasma e foram congeladas a -20° em microtubos tipo “ependorfs” para análise. O plasma foi analisado quanto às concentrações de aminoácidos, nitrogênio uréico (NUP) e ácidos graxos não esterificados (AGNE).

A concentração plasmática de AA foi analisada por diluição isotópica, com cromatografia líquida e espectrometria de massa de ionização por eletrospray após derivatização com o kit EZ:faast (catálogo nº KG0-7337, Phenomenex), em um sistema LCMS-2020 (Shimadzu) conforme descrito anteriormente (Pszczolkowski *et al.*, 2022).

O NUP foi analisado por hidrólise da ureia com urease, seguida de reação com hipoclorito e fenol, de acordo com Chaney;Marbach (1962).

Os teores plasmáticos de AGNE foram utilizando o kit comercial NEFA – Biotécnica BT9005400 , pelo método colorimétrico.

3.10 Análise Estatística

O procedimento Univariate do SAS Studio foi utilizado para checar a normalidade dos dados, utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando necessário, a transformação foi realizada utilizando o procedimento Rank para análise, mas foram reportados nas tabelas em sua forma não transformada.

Para análise estatística do comportamento ingestivo, a porcentagem de vacas de cada tratamento realizando cada atividade em cada ponto de observação foi utilizada para calcular a quantidade de minutos realizando cada atividade para cada tratamento no dia. Por isso, a observação de todas as vacas gerou um dado para cada tratamento em cada semana de coleta.

Os dados foram analisados como medidas repetidas utilizando o procedimento Mixed, com o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + S_k + T \times S_{jk} + e_{ijk},$$

onde μ = média geral, B_i = efeito aleatório de bloco (1, 2, 3, ..., 12), T_j = efeito fixo de tratamento (controle ou MPR), S_k = efeito fixo de semana de coleta (1, 2 ou 3), $T \times S_{jk}$ = interação entre tratamento e semana e e_{ijk} = erro residual. A interação entre tratamento e semana foi retirada do modelo quando não significativa ($P \geq 0,20$). Os graus de liberdade foram estimados usando o método de Kenward-Roger.

O critério de informação de Akaike foi utilizado para definir a melhor estrutura de covariância, entre autorregressiva de primeira ordem, simetria composta, simetria composta heterogênea, não estruturada e Toeplitz.

Os resíduos studentizados foram utilizados para detecção e remoção (≥ 3 ou ≤ -3) de outliers. As diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$ e tendências quando $P \leq 0,10$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características estruturais do dossel forrageiro

Na TABELA 2 estão apresentadas as características estruturais médias do dossel forrageiro, bem como as participações de seus componentes morfológicos. A altura média de entrada nos piquetes ficou em 99 cm, acima do pretendido, que era realizar a desfolha do dossel com a altura de 90 cm, que corresponde a 95% de interceptação luminosa. A altura média do resíduo encontrada foi de 52 cm.

Segundo Carnevalli *et al.* (2006), a maior taxa de acúmulo de MS e eficiência de pastejo são atingidos com 95% de interceptação luminosa, o que corresponde à altura pré-pastejo de aproximadamente 90 cm. Períodos mais longos de descanso resultaram em alturas maiores e pior qualidade de pastagem, pois ocorre aumento do acúmulo de colmos e de material senescentes no pasto, afetando a eficiência de crescimento da forragem, sua estrutura e valor nutritivo.

O intervalo médio entre pastejos foi de 20 dias. As vacas do experimento removeram cerca de 47 cm do dossel, ou 47 % da altura de entrada. Essa medida é importante, uma vez que estudos mostram que quando o rebaixamento do dossel atinge 50% da altura de entrada dos animais no piquete, o consumo é prejudicado por alterações comportamentais (CARVALHO *et al.*, 2009). Portanto, é possível considerar que não houve limitações no consumo e que os animais consumiram a maior parte de lâmina foliar, parte da forragem que possui melhor valor nutritivo.

O consumo de forragem é um dos fatores mais limitantes do desempenho individual de vacas leiteiras mantidas em pastagens (SANTOS *et al.*, 2003), sendo assim, é de suma importância práticas de manejo do pastejo e manejo dos animais para que potencializem a ingestão do pasto.

TABELA 2 - Características estruturais médias do capim Mombaça no momento da entrada e saída dos animais no piquete

Parâmetro	Entrada	DP	Saída	DP
Altura, m	0,99	0,13	0,52	0,11
Massa forragem, kg MS ha ⁻¹	7.340	1.741	3.460	1.407
Participação dos components				
Folhas, % MS	49,3	6,6	34,7	15,9
Colmos, % MS	38,9	8,7	41,8	12,0
Material morto, % MS	11,8	6,1	23,5	13,4
Relação folha:colmo	1,27		0,83	

Os valores de massa de forragem do pré e pós pastejo foram respectivamente 7.340 kg ha⁻¹ e 3.460 kg ha⁻¹. A massa de forragem que desapareceu entre a entrada e a saída dos animais foi em média 3,88 toneladas de MS ha⁻¹.

Como os piquetes tinham área de aproximadamente 0,20 ha⁻¹, a massa removida foi de 776 kg por piquete ou 32,3 kg MS por vaca. Considerando o peso médio das vacas de 590 kg, o desaparecimento de forragem por vaca foi equivalente a 5,5% do peso corporal. O teor de FDN do capim foi de 64,6% MS (apresentado no próximo tópico), o que resulta em um desaparecimento de FDN de 3,5% do PC, bem superior à capacidade de consumo desses animais.

A relação folha/colmo tem grande importância para o manejo forrageiro e para nutrição animal. Segundo Wilson (1982), a quantidade de folhas presente na forragem altera a qualidade da dieta ofertada, pois uma alta relação folha/colmo representa uma forragem com alto teor de proteína, boa digestibilidade e conseqüentemente alto consumo.

No presente estudo, essa relação foi de 1,27, com participação de 49,3% de folhas. Santos (1997), avaliando intervalo entre pastejos de 28, 38 e 48 dias encontrou relação folha/colmo para o capim Mombaça de 1,32, 1,16 e 0,99 respectivamente. Essas observações a respeito da relação folha/colmo nos permite estabelecer parâmetros para o manejo do capim Mombaça com o objetivo de evitar redução do consumo.

4.2 Características nutricionais dos alimentos

Pastagens bem manejadas, com altas taxas de adubação nitrogenada e manejadas respeitando a fisiologia da planta, produzem forragem com elevado valor nutritivo, muito diferente da composição bromatológica trazida nas tabelas dos principais modelos nutricionais.

A análise bromatológica do capim e dos ingredientes do concentrado está apresentada na TABELA 3.

TABELA 3 – Composição bromatológica do capim e dos concentrados

Ingredientes	Polpa cítrica	Caroço de algodão	Farelo de soja	Milho moído	Capim
MS, %	85,0 _(1,1)	90,1 _(1,0)	86,9 _(0,5)	87,6 _(0,1)	22,5 _(1,7)
PB, % MS	9,7 _(0,6)	21,0 _(1,1)	48,7 _(0,4)	10,3 _(0,5)	17,4 _(1,2)
FDN, % MS	27,6 _(0,3)	57,1 _(1,0)	27,8 _(5,5)	31,6 _(5,4)	64,6 _(2,9)
FDN _{cp} , % MS	22,2 _(0,2)	49,7 _(1,8)	20,8 _(3,0)	26,5 _(4,6)	54,2 _(2,2)
FDA, % MS	28,8 _(0,7)	41,9 _(2,3)	13,8 _(0,7)	6,4 _(0,4)	34,3 _(1,8)
FDAC _p , % MS	26,9 _(0,9)	40,6 _(2,5)	9,1 _(0,6)	3,6 _(0,3)	33,0 _(1,6)
EE, % MS	2,5 _(0,1)	18,2 _(0,5)	2,3 _(0,1)	7,4 _(1,8)	2,7 _(0,3)
Cinzas, % MS	6,9 _(1,0)	3,8 _(0,2)	6,7 _(0,2)	1,6 _(0,4)	8,7 _(0,6)
PIDN, % MS	1,2 _(0,0)	1,3 _(0,6)	4,1 _(0,2)	1,1 _(0,3)	5,2 _(1,4)
NIDN, % MS	0,2 _(0,07)	0,2 _(0,09)	0,7 _(0,05)	0,2 _(0,04)	1,0 _(0,37)
PIDA, % MS	1,3 _(0,4)	1,1 _(0,1)	1,9 _(0,3)	2,5 _(0,3)	1,3 _(0,3)
NIDA, % MS	0,2 _(0,0)	0,1 _(0,0)	0,6 _(0,0)	0,3 _(0,0)	0,2 _(0,0)
CNF, % MS	54,5 _(0,5)	1,2 _(0,7)	18,6 _(1,2)	50,2 _(1,8)	7,9 _(1,0)
N amostras	3	3	3	3	9

Números entre parênteses correspondem ao desvio padrão da média (DP); NA: não analisada

O valor nutritivo da pastagem está relacionado à sua digestibilidade e composição bromatológica, sendo assim, a pastagem apresentou bom valor nutricional, apresentando alto valor de PB (17,4%) e teores adequados de FDN (64,6%) e FDA (34,3%).

Euclides (1995) trabalhou com *Panicum maximum* Jacq., e relatou que teores de FDN acima de 65% são mais comuns de encontrar em tecidos novos, entre 75-80% são encontrados em tecidos mais maduros e abaixo de 55% é mais raro encontrar.

Voltolini *et al.* (2010) reportaram valores para FDN e FDA em pastagens de capim-elefante manejadas de acordo com a IL de 95%, e adubadas com 2 kg ha⁻¹ de nitrogênio por dia de intervalo de pastejo, de 65,1% e 35,9% respectivamente. Moura *et al.* (2014) trabalharam com capim Mombaça, com IL de 95%, e adubadas com 350 kg ha⁻¹ de N, 50 kg ha⁻¹ de P e

100 kg ha⁻¹ de K e encontraram valores de FDN e FDA bem próximos ao nosso estudo, 64,9% e 33,9%, respectivamente.

Forrageiras tropicais apresentam baixos teores de carboidratos não fibrosos que são raramente superiores a 20% dos carboidratos totais. Assim, a hemicelulose e celulose são responsáveis pela maior parte da fermentação ruminal. Desse modo, a relação FDA/FDN é um fator importante a ser analisado para saber o valor nutritivo da planta forrageira. Forragens que apresentam baixos valores de FDA em relação à FDN, disponibilizam uma fração fibrosa com alto de digestibilidade potencial (HERLING *et al.*, 2005).

O valor da relação FDN/FDA encontrada nesse estudo foi de 0,53. Lopes *et al.* (2011) caracterizou o teor de nutrientes e a digestibilidade da fibra das principais gramíneas tropicais produzidas sob pastejo rotacionado incluindo o Mombaça, e observou relações de FDN/FDA semelhantes às encontradas neste trabalho (0,56).

O teor de PB médio de 17,4% da MS foi superior aos relatados por outros trabalhos que trabalharam com *Panicum maximum* cv. Mombaça em sistemas de pastejo rotativo (LISTA *et al.* 2007; MOURA *et al.*, 2014; MALACCO, 2016). Normalmente, nas gramíneas tropicais, o conteúdo de PB na MS produzida está diretamente relacionado com aplicações de quantidades crescentes de nitrogênio, em doses estudadas variando de 100 até 600 kg N há⁻¹ (ALVIM *et al.*, 1999).

Os valores de NIDN e NIDA encontrados por Malacco, 2016 que trabalhou com *Panicum maximum* cv. Mombaça em sistemas de pastejo rotativo foram respectivamente (1,53 e 0,83% da MS), valores superiores ao encontrados neste trabalho, que foram respectivamente 1,0 e 0,2% da MS.

4.3 Consumo e produção de leite

Os dados de CMS, produção e composição do leite, estão apresentados na TABELA 4.

TABELA 4 – Consumo de matéria seca, produção e composição do leite em dietas Controle (CON) e Metionina protegida da degradação ruminal (MPR) de vacas mestiças F1 Holandês x Gir

Parâmetro	CON	MPR	EPM	P
CMS total, kg ⁻¹	14,5	14,5	0,448	0,898
CMS total, % PC ⁻¹	2,4	2,5	0,105	0,495
CMS de pasto, kg ⁻¹	4,98	5,04	0,462	0,915
CMS de pasto, % PC ⁻¹	0,8	0,8	0,07	0,642

Leite kg d ⁻¹	27,0	27,7	1,25	0,301
LCE ¹ , kg d ⁻¹	25,0	26,3	0,82	0,081
Gordura, %	3,25	3,39	0,133	0,343
Gordura, g d ⁻¹	857	916	25,5	0,115
Proteína, %	3,16	3,28	0,065	0,097
Proteína, g d ⁻¹	835	893	26,7	0,003
Caseína, %	2,48	2,58	0,048	0,088
Caseína, g d ⁻¹	649	699	20,8	0,004
Caseína/Proteína, g d ⁻¹	77,8	78,3	0,26	0,215
Lactose, %	4,57	4,61	0,048	0,515
Lactose, g d ⁻¹	1237	1275	67,3	0,372
Sólidos Totais, %	11,89	12,27	0,19	0,093
NUL ² , mg dL ⁻¹	16,8	16,6	0,39	0,675

¹LCE: Leite corrigido para energia; ² NUL:nitrogênio ureico no leite.

O CMS total não foi afetado pelo tratamento ($P = 0,89$). A média de consumo de 14,5 kg dia⁻¹ MS desse estudo apresenta-se abaixo do estimado pelo NRC (2001), de 19,9 kg dia⁻¹ para vacas em lactação com PC médio de 590 kg, produção de 32 kg de leite com 3,43% de gordura.

O CMS do pasto não foi afetado pelo tratamento ($P = 0,91$). Outros estudos realizados na mesma área de pastagem com forragem de qualidade e animais semelhantes encontraram consumo médio de 7,1 kg de MS dia⁻¹ (OLIVEIRA, 2011; FREITAS, 2013; MOURA *et al.*, 2014; MALACCO, 2016).

Segundo Zhou *et al.* 2016 o aumento do CMS observado das dietas com suplementação MPR no pós-parto pode ser explicado por uma redução dos níveis de inflamação e estresse oxidativo, levando a um melhor estado imunometabólico e função hepática.

Os efeitos sobre ingestão de matéria seca em outros estudos usando suplementação com MPR mostraram respostas inconsistentes. Alguns estudos mostraram aumento significativo do CMS (OSORIO *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2016; BATISTEL *et al.*, 2017), mas em outros estudos não tiveram efeitos sobre o CMS (ORDWAY *et al.*, 2009; LEE *et al.*, 2015; GIALLONGO *et al.*, 2016).

Patton *et al.* (2010), em uma meta-análise com 35 estudos, demonstraram que existe alguns fatores como: presença de AA co-limitante, nível de suplementação de metionina, duração da dieta e estágio da lactação podem influenciar o CMS e conseqüentemente, confundir os resultados.

Houve efeito da suplementação com MPR na produção de LCE ($P = 0,08$). A suplementação tendeu a aumentar 1,3 kg leite dia⁻¹. Essa resposta entre os grupos pode ser observada no GRÁFICO 1, que mostra a produção de leite ao longo das semanas, do grupo CON e MPR.

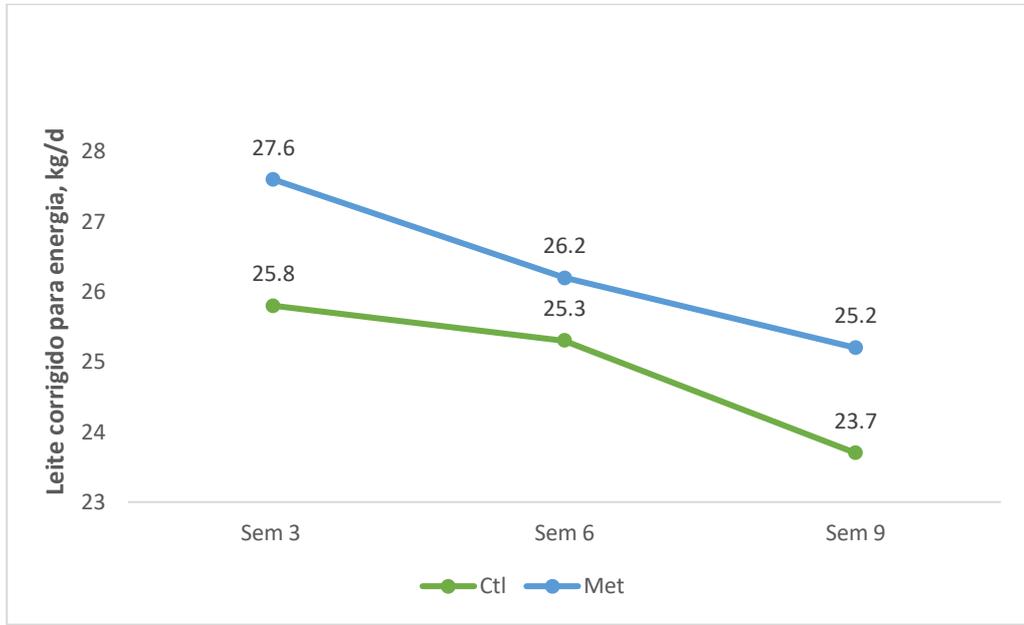


GRÁFICO 1 – Efeito da suplementação de MPR na produção de leite corrigido para energia comparado com o grupo controle.

Os mecanismos pelos quais a suplementação com MPR aumenta a produção de leite ainda não são totalmente compreendidos. Alguns trabalhos não observaram efeitos da suplementação de vacas em lactação com MPR sobre a produção de leite (GRECO, 2008; SOCHA *et al.* 2005).

Ordway *et al.* (2009), avaliando os efeitos de MPR em vacas holandesas periparturientes, observaram menor CMS, o que implicou em redução na produção de leite, e isso também foi observado por SOCHA *et al.* 2005. Observa-se, portanto, que o aumento da produção de leite sofre grande influência do CMS.

A resposta em produção de leite frente à suplementação com MPR é frequente em vacas no período de transição (OSORIO *et al.* 2013; ZHOU *et al.* 2016, BATISTEL *et al.* 2017). Mas, isso não é consenso, já que alguns trabalhos no período de transição mostram que a MPR não alterou a produção de leite (KURDNA *et al.* 2009; CARDOSO *et al.*, 2021).

Segundo Schwab (1996), aumentos na produção de leite ocorrem no início de lactação. Alguns estudos também mostram que a metionina é mais limitante no início da lactação

(SANCANARI *et al.* 2001; SOCHA *et al.* 2008). Rulquin *et al.* (1993) e Rodriguez (1996) verificaram que a resposta à suplementação com metionina e lisina protegidas da degradação ruminal no início da lactação foi maior que no meio da lactação.

Alguns estudos sugeriram que a resposta na produção de leite quando metionina foi suplementada poderia variar dependendo de alguns fatores, como fornecimento de metionina, fonte de metionina, nível de lisina (SOCHA *et al.* 2005), proteína metabolizável e PNDR nas dietas e fase de lactação (SCHWAB *et al.*, 1992).

A produção de gordura do leite não foi alterada com a suplementação de MPR, apesar do aumento numérico de 59 g d^{-1} ($P = 0,34$) e $0,14$ unidades percentuais d^{-1} ($P = 0,11$). Essa mudança no teor de sólidos pode influenciar a receita com o leite em sistemas de pagamento por sólidos e alterar o retorno sobre investimento da tecnologia MPR.

Os efeitos relatados da suplementação com MPR na porcentagem e produção de gordura do leite têm sido inconsistentes. Alguns estudos apresentam resultados positivos, em que a inclusão de metionina proporcionou aumento na produção e/ou porcentagem de gordura no leite de vacas (BRODERICK *et al.* 2008; OSORIO *et al.* 2013), mas em outros estudos não houve efeito sobre o aumento no teor de gordura e/ou na produção de gordura (KUDRNA *et al.* 2009; OSORIO *et al.* 2013; ZHOU *et al.* 2016).

Socha *et al.* (2008) relataram que a infusão duodenal de metionina aumentou a porcentagem de gordura do leite e a produção em vacas durante o início da lactação (~15 semanas de lactação), mas não no pico (~5 semanas de lactação) ou no meio da lactação (~21 semanas de lactação).

Há pelo menos dois possíveis mecanismos para o aumento da gordura do leite em vacas suplementadas com MPR: a metionina é considerada um agente lipotrópico, portanto, estimula a síntese de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), o que aumenta a exportação de triglicerídeos para a glândula mamária, onde serão incorporados à gordura do leite; ou a metionina pode participar como doadora de grupo metil, que a partir de reações de transmetilação, pode contribuir para a síntese *de novo* dos ácidos graxos, aumentando o teor de gordura (SAMUELSON *et al.* 2001).

No entanto, a primeira explicação só consegue ser aplicada quando há deficiência destes precursores no organismo animal e estudos recentes mostram que a metionina tem efeito mínimo sobre o lipidoma do VLDL em células hepáticas bovinas (CHANDLER e WHITE, 2017). Osorio *et al.* (2013) não evidenciaram diferenças significativas quando mensuraram VLDL e nível de triglicerídeo hepático, embora o teor de gordura também não foi influenciado.

A segunda explicação faz mais sentido, uma vez que a deficiência de metionina tem influência negativa na síntese *de novo* dos ácidos graxos na glândula mamária (TEIXEIRA *et al.* 2019).

A suplementação com MPR tendeu a aumentar o teor de proteína do leite ($P = 0,09$), bem como o de caseína ($P = 0,08$) e sólidos totais ($P = 0,09$). Além disso, a MPR aumentou a produção diária de proteína e caseína (em 58,5 e 50 g d⁻¹, respectivamente, $P < 0,05$). Segundo Patton, (2010) e Zanton *et al.* (2014) o aumento da proteína do leite é a resposta mais consistente quando vacas são alimentadas com MPR e a caseína é a fração proteica mais influenciada pela suplementação com AA (RULQUIN *et al.*, 1990).

O correto balanceamento de aminoácidos, principalmente lisina e metionina, que são os aminoácidos mais limitantes para produção de leite, são importantes para a produção de proteína no leite (NRC, 2001; SCHWAB *et al.* 2006), sendo que a produção de proteína no leite se dá em função do suprimento de aminoácidos absorvidos no intestino delgado que chega à glândula mamária (DOEPEL *et al.* 2004; LAPIERRE *et al.* 2006; SCHWAB *et al.* 2006).

Diversos estudos em que foi avaliada a suplementação de vacas leiteiras com MPR tiveram resultados positivos na produção e/ou teor de proteína do leite (ARMENTANO *et al.* 1997; RULQUIN *et al.* 2006; KAUFMAN *et al.* 2019). Por outro lado, Kurdna *et al.* (2009) não evidenciaram diferenças significativas para proteína. Esses autores atribuíram que o nível de proteína na dieta poderia se justificar.

A síntese de proteína é sensível à metionina e um dos mecanismos que explica isso é a ativação do mTOR pelo SAM, e isso explica por que vacas leiteiras em lactação alimentadas com dietas à base de milho, comumente apresentam maior produção de proteína com a suplementação de MPR (APPUHAMY *et al.* 2012).

Outro mecanismo que pode explicar o aumento da produção de caseína do leite observada neste estudo é que a relação metionina:lisina tem influência na expressão de caseína em células epiteliais mamárias bovinas, e o pico de concentração de caseína em uma proporção suplementar de 3:1 entre lisina e metionina é impulsionada em parte via regulação positiva da expressão de mRNA e vias mTOR (NAN *et al.* 2014).

Estudos em que a MPR foi suplementada resultou em aumentos na porcentagem de proteína do leite (OSORIO *et al.* 2013; ORDWAY *et al.* 2009; SUN *et al.* 2016; ZHOU *et al.* 2016). Esse aumento ocorre na mesma proporção com a adequação da metionina na proteína metabolizável (NRC, 2001).

Leão *et al.* (2017) conduziram uma meta-análise para avaliar os fatores que influenciaram a resposta à suplementação com MPR. Com 32 comparações entre dieta controle

e dieta suplementada os autores observaram que a resposta foi maior em dietas com teor de PB acima de 16% comparado às abaixo de 16%. A duração da suplementação também foi um fator importante, já que a resposta da produção de proteína do leite foi maior quando a suplementação foi por mais de 60 dias (54 vs. 19 g d⁻¹).

Não foi observado aumento na concentração de lactose do leite neste estudo ($P = 0,51$). Existe uma correlação positiva entre produção de leite e aumento da produção de lactose, isso é devido à capacidade osmótica da lactose (BRODERICK E CLAYTON, 1997).

A metionina pode ser utilizada como aminoácido glicogênico, e portanto, parte da glicose necessária para produzir lactose na glândula mamária é derivada da gliconeogênese (ASCHENBACH *et al.* 2010). Mas, Segundo Galindo *et al.* (2005) as vacas têm prioridades fisiológicas e metabólicas primordiais, como: metilação do DNA, síntese proteica, reações de transmetilação, síntese de glutatona, entre outros, portanto, a metionina não é priorizada para a produção de glicose e contribuição para o metabolismo glicogênico.

O teor de NUL não foi alterado com a inclusão de MPR ($P = 0,67$). O correto balanceamento da dieta de vacas leiteiras em relação aos níveis de carboidratos degradáveis no rúmen e das frações proteicas solúvel, degradável e não degradável no rúmen pode ser expresso através do conteúdo de ureia no leite (MACHADO E CASSOLI, 2007). Assim, o teor de ureia no leite também pode ser um indicador do status nutricional do rebanho (DEPETERS E FERGUSON, 1992).

Machado e Cassoli (2007) sugeriram que para vacas produzindo leite com teores de 3,0 a 3,2% de proteína bruta, a concentração de nitrogênio ureico no leite deve ficar em torno de 10 a 14 mg dL⁻¹. Concentrações acima desses valores pode ser resultado de dietas com excesso de PDR e proteína solúvel e abaixo desses valores podem indicar dietas com deficiência de PDR. Já Hayes *et al.* 1996; Broderik e Clayton, 1997 sugeriram que valores entre 7 e 19 mg dL⁻¹ são considerados dentro da faixa do normal para vacas leiteiras em lactação.

Concentrações mais altas de NUL são normalmente esperadas para vacas em pastagem em comparação com vacas alimentadas com TMR (TREVASKIS & FULKERSON, 1999; BARGO *et al.*, 2003). Isso se deve ao fato de que, a pastagem tem proteína de alta degradabilidade ruminal, e quando as dietas são ricas em PDR, há um pico de nitrogênio ureico de uma a duas horas após a alimentação, e para ter um melhor aproveitamento desse N, seria necessário ter esqueletos de carbono vindo da forragem para efetivar a proteína microbiana.

Voltolini *et al.*, (2003) e Martinez (2004) encontraram valores que variaram entre 13,9 a 15,2 mg dL⁻¹ para vacas em lactação, mantidas em pastagem de capim Elefante, recebendo suplementação com concentrado. Danés *et al.* (2013) avaliaram níveis crescentes de PB (8,7%,

13,4% e 18,1%) no concentrado em vacas leiteiras mestiças em pastagens tropicas e encontraram valores de NUL entre 8,34 e 13,34 mg dL⁻¹.

O excesso de PDR resulta em grande quantidade de amônia sendo absorvida na corrente sanguínea e convertida em ureia no fígado (DEPETERS E FERGUSON, 1992). Nesse estudo, os valores encontrados foram ao redor de 16 mg dL⁻¹. Esse valor era esperado uma vez que o teor de proteína bruta da dieta total consumida pelas vacas foi alto. O pasto apresentou 17,4% de PB e o concentrado 22%. Nosso balanço de PDR na dieta formulada foi alto (400 g d⁻¹), portanto era esperado um valor de NUL mais alto e isso pode ser explicado porque os microrganismos ruminais sintetizaram o seu limite máximo de proteína microbiana para atender as suas exigências.

Segundo Brito e Broderick (2007), o NUL sofre muita influência de DEL, genética, manejo de rebanho, fazendo com que tenha variações entre animais e entre experimentos. Portanto, deve-se avaliar com cuidado os intervalos de recomendações de NUL.

4.4 Derivados de purinas

O volume de urina, concentração e excreção urinária de derivados de purina, estimativa de produção de proteína microbiana e excreção de N na urina estão apresentados na TABELA 5. A suplementação com MPR aumentou consideravelmente o volume de urina (14 L d⁻¹, $P = 0,06$) e tendeu a reduzir a concentração urinária de creatinina ($P = 0,06$).

TABELA 5 – Volume urinário e excreções urinárias diárias de creatinina, alantoína e ácido úrico, derivados de purinas, síntese de proteína microbiana e excreção de N em dietas Controle (CON) e Metionina protegida da degradação ruminal (MPR) de vacas mestiças F1 Holandês x Gir

Parâmetro	CON	MPR	EPM	P
Volume urinário estimado, L d ⁻¹	54	68	5,7	0,064
Creatinina, mg dL ⁻¹	31	24	2,4	0,063
Alantoína, mmol d ⁻¹	285	329	29	0,230
Ácido úrico, mmol d ⁻¹	82	105	8,2	0,065
Derivados de purina, mmol d ⁻¹	371	433	35	0,194
Produção de proteína microbiana, g d ⁻¹	1618	1845	175	0,290
Excreção urinária N, g d ⁻¹	491	634	52	0,068

Um bovino adulto urina, em média, 8 a 12 vezes e em cada evento produz 1,6 a 2,2 litros de urina (MATHEWS & SOLLENBERGER, 1996). Segundo Holter & Urban (1992), vacas

com média de 34,6 kg dia⁻¹ de leite, tem excreção de urina de 4,5 a 35,4 L dia⁻¹. Ravera *et al.* (2015) relataram um intervalo, superior ao mencionado anteriormente, de volumes de urina de 24 horas de 8,7 a 47 L dia⁻¹ para vacas leiteiras Friesian Jersey pastando em culturas de inverno.

Oliveira *et al.* (2007) estimaram o volume urinário médio de 27,6 L dia⁻¹ (com média de 55,4 mg dL⁻¹ de creatinina) e atribuíram este volume às altas temperatura no período de experimento.

O volume urinário neste experimento esteve um pouco acima dos volumes de urina encontrados na literatura e segundo o NRC (2001), o aumento de temperatura provoca elevação no consumo de água, e conseqüentemente, nas excreções urinárias.

O volume urinário deste experimento é um valor expressivo para animais suplementados a pasto no período das águas, já que a produção de urina mostra que os animais tiveram acesso ao consumo de água, a qual era fornecida à vontade nos piquetes.

O volume urinário de ruminantes é dependente do consumo de N, porque aumenta o consumo de água e conseqüentemente o volume de urina (CHURCH, 1979). Dados de consumo de nitrogênio em relação ao volume urinário parecem estar de acordo com Olmos-Colmenero e Broderick (2006) que encontraram aumento linear no volume urinário (17,3; 15,4; 17,9; 19,4 e 21,7 L dia⁻¹) com aumento no consumo diário de N (483, 531, 605, 641 e 711 g dia⁻¹, respectivamente).

Na literatura existem várias equações para estimar volume de urina, que levam em conta tanto fatores animais (PC, produção e composição do leite) quanto fatores dietéticos (CMS e PB). No entanto, essas equações são estimadas principalmente a partir de vacas holandesas alimentadas com ração TMR, como resultado, os volumes de urina preditos com essas equações podem ter abaixo do previsto os volumes de urina em nosso estudo.

Portanto, ao considerar o volume urinário, fica evidente que a excreção diária de urina é altamente variável e é afetada por múltiplos fatores (VALADARES *et al.*, 1999), que incluem: quantidade de água ingerida, teor de umidade dos alimentos, ingestão de minerais, temperatura diária e composição química da dieta consumida (ou seja, teor de N) (NRC, 2001; NENNICH *et al.*, 2006; RAVERA *et al.*, 2015).

Estudos mostraram que a ingestão total de N de pastagens e concentrados é um principal fator que afeta a excreção de urina, pois vacas alimentadas com dietas ricas em PB consomem mais água e excretam mais urina do que vacas alimentadas com uma dieta mais baixa em proteína (BANNINK *et al.*, 1999; BRODERICK, 2003). Como o pasto costuma fornecer altas quantidades de PDR, espera-se que o volume de urina possa ser maior em comparação com as rações TMR.

A excreção urinária de alantoína (mmol d^{-1}) relatada neste estudo foi ligeiramente superior aos 181 mmol d^{-1} relatados por Moorby *et al.* (2006) para vacas Holandesas alimentadas com uma relação volumoso/concentrado de 65:35.

Danes *et al.* (2013) avaliaram o efeito da suplementação proteica no metabolismo de vacas Holandês \times Jersey em pastagens tropicais (16,3 kg CMS; 18,6% PB e 58,7% FDN) em meio da lactação produzindo em média 20 kg de Leite d^{-1} , relataram que os animais produziram 1123 g vaca d^{-1} de proteína microbiana.

A excreção de derivados de purinas não foi afetada pelos tratamentos ($P = 0,19$). Segundo Chizzoti *et al.* (2007), os animais que consomem mais, apresentam maior síntese microbiana ruminal, como resultado do maior suprimento de substratos fermentáveis. Nesse trabalho, a produção de proteína microbiana foi semelhante, demonstrando não haver diferença no uso do nitrogênio e energia no rúmen e houve suprimento de proteína suficiente para fornecimento de aminoácidos necessários ao metabolismo da vaca.

4.5 Comportamento ingestivo

O tempo de pastejo, ócio e ruminação estão apresentados na TABELA 6. Pode-se observar que não houve efeito do tratamento no comportamento ingestivo dos animais ($P > 0,10$). As vacas passaram em média 353 min d^{-1} pastejando, 432 min d^{-1} ruminando e 596 min d^{-1} ociosas.

TABELA 6 – Tempo de pastejo, ócio e ruminação em dietas Controle (CON) e Metionina protegida da degradação ruminal (MPR) de vacas mestiças F1 Holandês \times Gir

Componente	CON	MPR	EPM	P
Pastejo total (min d^{-1})	351	355	19	0,887
Pastejo manhã (min d^{-1})	72	85	7	0,2907
Pastejo noite (min d^{-1})	264	258	21	0,844
Ócio (min d^{-1})	606	587	10	0,2571
Deitada total (min d^{-1})	456	479	12	0,2369
Em pé total (min d^{-1})	576	547	19	0,3588
Ruminando total (min d^{-1})	426	439	26	0,7272
Ruminando deitada (min d^{-1})	200	240	14	0,1066
Ruminando em pé (min d^{-1})	225	199	22	0,4624

O maior pico de pastejo ocorreu quando as vacas entraram em um novo piquete após a ordenha da tarde, em que todas as vacas pastaram por aproximadamente 2,5 h. Além do tempo de pastejo, as vacas passaram outros 651 min d⁻¹ em pé, o que resulta em apenas 467 min d⁻¹ de tempo deitadas.

O tempo em repouso impacta diretamente na produção de leite, em parte devido ao fluxo sanguíneo para a glândula mamária e deve ser maximizado (KRAWCZEL & GRANT 2009). As mais de 10 horas de repouso sem pastejo são consequência de práticas de manejo como ordenha, alimentação concentrada e movimentação das vacas de e para os piquetes. Essas práticas devem ser pensadas com cuidado para permitir mais tempo de descanso e talvez de pastejo, ambos com potencial para aumentar a produção de leite.

4.7 Metabólitos sanguíneos

As concentrações plasmáticas de AGNE e NUP estão apresentados na TABELA 7. Pode-se observar que NUP não foi afetado ($P = 0,73$) pelo tratamento. Segundo Oliveira *et al.*, (2007), o sincronismo entre proteína e energia no rúmen é essencial para maximizar a fermentação ruminal e sua eficiência pode ser medida pela concentração de NUP. A concentração de NUP dos ruminantes está diretamente relacionada com o consumo e eficiência de utilização da proteína da dieta, amônia ruminal e NUL (HAMMOND,1997).

A alimentação com excesso de proteína pode gerar níveis plasmáticos acima de 19 mg dL⁻¹ de NUP, interferindo negativamente no desempenho reprodutivo das vacas produtoras de leite (BUTLER *et al.*, 1996).

Lima *et al.* 2004 encontraram médias de NUP de 9,8 mg dL⁻¹ para as vacas mestiças (Holandês x Gir) mantidas em capim-elefante, com teor médio de 7,5% de PB e 10,6 mg dL⁻¹ e para vacas mantidas em capim-Tanzânia, com teor médio de 8,5% de PB. Ruegg *et al.* (1992) encontraram valores maiores de NUP para vacas leiteiras manejadas intensivamente, com médias entre 16,3 e 19,1 mg dL⁻¹. Hayes *et al.* (1996) também observaram valores bem mais altos de NUP (19,1 e 21,3) em vacas mantidas em pastagens na Nova Zelândia, com teores de PB acima de 20%.

Danés *et al.* (2013) avaliaram níveis crescentes de PB (8,7%, 13,4% e 18,1%) no concentrado em vacas leiteiras mestiças em pastagens tropicas e encontraram valores de NUP entre 14,8 e 17,7mg dL⁻¹. Os valores de NUP e de NUL no nosso estudo

mostram que a quantidade de matéria orgânica fermentável no rúmen foi suficiente para adequada utilização do N da dieta pelos microrganismos do rúmen.

Como já falado no tópico de NUL, nosso balanço de PDR na dieta formulada foi alto (400 g d^{-1}), portanto era esperado um valor de NUL mais alto e isso pode ser explicado porque os microrganismos ruminais sintetizaram o seu limite máximo de proteína microbiana para atender as suas exigências.

TABELA 7 - Ácidos graxos não esterificados e Nitrogênio ureico no plasma em dietas Controle (CON) e Metionina protegida da degradação ruminal (MPR) de vacas mestiças F1 Holandês x Gir

	CON	MET	EPM	P
AGNE (mmol L^{-1})	0.162	0.165	0.013	0.839
NUP (mg dL^{-1})	17.4	17.7	0.67	0.733

Pode-se observar que a concentração de AGNE não foi afetada pelos tratamentos ($P = 0,83$). Osorio *et al.* (2013) e Zhou *et al.* (2016) não observaram diferença da suplementação de MPR sobre AGNE. No entanto, Batistel *et al.*, 2017, encontrou tendência de menores concentrações de AGNE para vacas suplementadas com MPR no período de transição.

O aumento do suprimento intestinal de metionina reduziu linearmente as concentrações plasmáticas de AGNE quando as vacas foram suplementadas antes dos 50 dias de lactação (PISULEWSKI *et al.*, 1996 ; SOCHA, 1994), mas à medida que avançava a lactação, e aproximava dos 100 dias de lactação ou após 150 dias não houve mudança no perfil de AGNE (SOCHA, 1994).

Oliveira *et al.* (2014) encontraram valores do AGNE de $0,86 \pm 0,44 \text{ mmol L}^{-1}$, demonstrando que estava ocorrendo lipólise no pós parto de vacas mestiças (Holandês x Gir). Conforme afirma Oetzel (2008), valores de AGNE maiores que $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ são indicativos de lipomobilização. Como nosso estudo ocorreu no meio da lactação, era esperado um valor mais baixo de AGNE.

As concentrações plasmáticas de AA estão apresentadas na TABELA 8. Essa é a primeira vez que é relatado dados de AA no sangue com vacas mestiças F1 Holandês x Gir em sistema de pastejo.

TABELA 8– Efeito da suplementação de MPR na concentração plasmática de AA de vacas mestiças F1 Holandês x Gir em dietas Controle (CON) e Metionina protegida da degradação ruminal (MPR) de vacas mestiças F1 Holandês x Gir

AA $\mu\text{mol L}^{-1}$	CON	MPR	EPM	P
Alanina	278,3	288,9	16,499	0,59
Arginina	122,4	102,6	6,548	0,13
Asparagina	49,4	47,8	2,647	0,64
Aspartato	12,1	11,4	0,679	0,17
Glutamato	50,9	46,6	2,589	0,05
Glutamina	215,0	194,8	9,375	0,07
Glicina	350,0	308,3	12,022	0,03
Histidina	39,5	37,0	2,104	0,25
Isoleucina	113,3	121,3	7,633	0,64
Leucina	184,5	217,6	19,751	0,28
Lisina	94,3	96,9	5,400	0,63
Metionina	31,4	35,7	2,300	0,22
Fenilalanina	57,8	59,8	2,524	0,57
Prolina	77,1	75,3	3,203	0,65
Serina	94,3	89,7	4,088	0,43
Treonina	89,0	93,8	4,308	0,44
Triptofano	37,7	39,0	1,753	0,61
Tirosina	79,2	82,6	4,617	0,60
Valina	192,2	197,5	11,222	0,68

Observamos que houve diminuição das concentrações plasmáticas de alguns aminoácidos não essenciais: Glutamato, Glutamina e Glicina ($P = 0,05$; $P = 0,07$ e $P = 0,03$) para o grupo MPR. De acordo com Lapierre *et al.* 2006 e Raggio *et al.* 2004 a diminuição de alguns AA no sangue ocorre por oxidação direta de AA pelas células epiteliais do intestino, resultando assim em disponibilidade reduzida de AA.

A glicina, desempenha um papel direto na síntese de proteínas, principalmente colágeno e elastina e é um importante precursor glicogênico. Doepel *et al.* (2002) encontraram aumento de glicina em vacas em balanço energético negativo e sugeriram estar relacionados com a quebra de proteína muscular. Portanto, sugere-se que as concentrações de glicina no plasma podem ser usadas como um indicador do estado metabólico e energético de vacas leiteiras em lactação (XU *et al.*, 2020)

Chiogna *et al.* 2020 relataram um aumento da concentração plasmática de metionina, em comparação ao grupo controle, em vacas suplementadas com 23 g d⁻¹ (29,6 vs 18,4 $\mu\text{mol d}^{-1}$). Zhou *et al.* (2016) encontraram aumento das concentrações plasmáticas de vários AA essenciais e não essenciais. Isso pode ser explicado pelo maior CMS no pré e pós parto observado em seu estudo. Giallongo *et al.* (2016) sugeriram que a suplementação de MPR somente aumentou a concentração plasmática de metionina quando suplementado com lisina e

histidina. Rulquin & Delaby (1997) suplementaram vacas leiteiras em pastejo com 13 g d^{-1} de RPM e relataram um aumento de 27% nos níveis plasmáticos de Met.

Leterier *et al.* 2022 em uma meta-análise, mostraram que em um nível semelhante de PM e fornecimento de energia, as diferenças encontradas no perfil de AAE no plasma podem ser devido a uma proporção diferente de AAE fornecida na PM, extração de AA pelo fígado e pelos tecidos periféricos. Segundo Bequette *et al.* 2000 o perfil de AAE em relação as necessidades da glândula mamária, pode ser modificado, pelo fluxo sanguíneo da glândula mamária para captação de AAE deficiente na circulação.

Infusões abomasais (SEYMOUR *et al.* 1990) e duodenais de met (PISULEWSKI *et al.* 1996) elevam as concentrações de met no sangue e no plasma. Da mesma forma, a suplementação com MPR geralmente está associada a concentrações mais altas de met no plasma. Apesar do grupo MPR terem concentração plasmática de metionina 13% maior do que o grupo CON ($35,72 \mu\text{mol L}^{-1}$ vs $31,48 \mu\text{mol L}^{-1}$), não houve diferença estatística ($P = 0,22$). A concentração plasmática de qualquer metabólito é consequência da entrada do metabólito no sistema e sua utilização pelo organismo. Dessa forma, mesmo com maior aporte de met metabolizável decorrente da MPR, a produção de proteína do leite foi maior para esse tratamento e, portanto, a remoção de AAE do sangue. Broderick (1974) propôs que a variação dos AAE no plasma poderia ser usada como um método para identificar AA limitante, assumindo que os níveis plasmáticos de AA aumentariam em resposta à suplementação apenas quando a oferta é superior as necessidades das vacas.

O teor de aminoácidos no plasma é utilizado para avaliar a resposta à suplementação com MPR, assumindo que essa variável representaria a disponibilidade de aminoácidos para os tecidos, principalmente, para a glândula mamária. O efeito da suplementação com metionina sobre o teor de aminoácidos no sangue arterial (LEE *et al.*, 2012; ORDWAY *et al.*, 2009; SAINT-PIERRE E SYLVESTRE, 2005) é tão variável quanto o efeito sobre o desempenho animal.

Dong *et al.* 2017, sugeriu a existência de um mecanismo pelo qual um aumento na oferta de metionina pode provocar feedback negativo sobre a absorção de AA quando os AA essenciais estão equilibrados.

Não existe na literatura trabalhos que mostram AA no sangue de vacas Girolando, portanto, não temos valores para comparar e o padrão racial é um dos fatores que deve ser levado em consideração para a correta interpretação dos dados.

5. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho confirmam o efeito positivo da suplementação com RPM na produção e composição de leite. Os resultados ressaltam a importância do equilíbrio de AA, principalmente metionina em dietas de vacas Mestiças F1 Holandês x Gir para melhor sua eficiência no meio da lactação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, D. C., LANA, R. D. P., DE OLIVEIRA, A. S., TEIXEIRA, R. M., GHEDINI, C. P., FONSECA, M. A., DE PAULA, R. M. Cinética da produção de leite em função da suplementação com concentrados energéticos e proteicos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v. 8, n. 4, p. 675-680, 2013.
- ALBRIGHT, J.L. Nutrition and feeding calves: feeding behavior of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.2, p.485- 498, 1993.
- ALLDEN, W.G; WHITTAKER, I. A. McD, The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelationship of factors influencing herbage intake availability. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 21, p. 755-766, 1970.
- ALVES, D.D. Nutrição aminoacídica de bovinos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n.3, p.265-271, 2004.
- ALVIM, M. J., FERREIRA, D. X., SILVA, V. S. et al. Resposta do Tifton 85 a doses de nitrogênio e intervalo de cortes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n.12, p. 2345-2352, 1999.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the **Association of the Analytical Chemists**. 16th ed. Washington, 1995.
- AOAC. 2005. **Official Methods of analysis of the association of analytical chemists international**. AOAC, Washington DC.
- APPUHAMY JADRN, KNOEBEL NA, NAYANANJALIE WAD, ESCOBAR J, HANIGAN MD. Isoleucine and Leucine Independently Regulate mTOR Signaling and Protein Synthesis in MAC-T Cells and Bovine Mammary Tissue Slices. **J Nutri.**; 2012
- ARMENTANO LE, BERTICS SJ, DUCHARME GA. Response of Lactating Cows to Methionine or Methionine Plus Lysine Added to High Protein Diets Based on Alfalfa and Heated Soybeans. **J Dairy Sci**. American Dairy Science Association; 1997;80(6):1194–9.
- ARMENTANO, L.E.; BERTICS, S.J.; DUCHARME, G.A Lactational responses to rumen protected methionine with lysine, in diets based on alfafa haylage. **Journal of Dairy**

- Science**, Albany, v.78, suppl. 1, p. 202-202, 1993. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA E ASAS, 1993, Maryland.
- ASCENBACH JR, KRISTENSEN NB, DONKIN SS, HAMMON HM, PENNER GB. Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. **IUBMB Life**. 2010;62(12):869–77
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 12.ed. Washington, D.C.: 1990. 1094p.
- AUBOIRON, S., DURAND, D., ROBERT, J.C., CHAPMAN, M.J. and BAUCHART, D. (1995). Effects of dietary fat and L-methionine on the hepatic metabolism of very low density lipoproteins in the preruminant calf, *Bos* spp. **Reproduction, Nutrition, Development**. 35(2). p. 167–178.
- B.J. BEQUETTE, M.D. HANIGAN, A.G. CCALDER, C.K. REYNOLDS, G.E. LOBLEY, J. C. MACRAE. Amino acid exchange by the mammary gland of lactating goats when histidine limits milk production. **J. Dairy Sci.**, 83 (2000), pp. 765-775
- BANNINK, A., VALK, H. & VAN VUUREN, A.M., 1999. Intake and excretion of Sodium, Potassium, and Nitrogen and the effects on urine production by lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 82, 1008-1018
- BARGO, J.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.1, p.1-42, 2003.
- BATISTEL, FERNANDA; DE SOUZA, JONAS; SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO PORTELA. Corn grain-processing method interacts with calcium salts of palm fatty acids supplementation on milk production and energy balance of early-lactation cows grazing tropical pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 5343-5357, 2017.
- BERNABUCCI, U., B. RONCHI, N. LACETERA AND A. NARDONE. 2005. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.** 88:2017-2026
- BERTHIAUME, R., P. DUBREUIL, M. STEVENSON, B. W. MCBRIDE, and H. LAPIERRE. 2001. Intestinal disappearance, mesenteric and portal appearance of amino acids in dairy cows fed ruminally protected methionine. **J. Dairy Sci.** 84:194–203
- BRITO, A. F., BRODERICK, G. A. Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.1816–1827, 2007.
- BRODERICK, G. A., M. J. STEVENSON, R. A. PATTON, N. E. LOBOS, and J. J. OLMOS COLMENERO. 2008. Effect of supplementing rumen-protected methionine on production and nitrogen excretion in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 91:1092–1102.

- BRODERICK, G.A., 2003. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 86, 1370-1381.
- BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.11, p.2964-2971, 1997
- BROSNAN JT, BROSNAN ME. The sulfur-containing amino acids: An overview. **The Journal of Nutrition**. 2006; 136(Suppl.):1636S–1640S.
- BURNS, J.C.; SOLLENBERGER, L.E. Grazing behavior of ruminants and daily performance from warm season grasses. **Crop Science**, v.42, p.873-881, 2002.
- BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAM, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, p.858-65, 1996
- C. LEE, A.N. HRISTOV, K.S. HEYLER, T.W. CASSIDY, H. LAPIERRE, G.A. VARGA, C. PARYS. Effects of metabolizable protein supply and amino acids supplementation on nitrogen utilization, production and ammonia emissions from manure in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, 95 (2012), pp. 5253-5268.
- CARDOSO, F.; DONKIN, S.; PEREIRA, M.; CAPRONI, V.; PARYS, C.; DANES, M.; Effect of protein level and methionine supplementation on dairy cows during the transition period. **J Dairy Sci.** 2021; P5467-5478
- CARNEVALLI, R.A.; SILVA, S.C.; OLIVEIRA, A.A. et al. Herbage production and grazing losses in *Panicum maximum* cv. Mombaça pastures under four grazing managements. **Tropical Grasslands**, v.40, n.3, p.165-176, 2006.
- CARVALHO, P.C.F., MORAES, A. Comportamento ingestivo de ruminantes: bases para o manejo sustentável do pasto. In: Simpósio sobre Manejo Sustentável das Pastagens, Maringá. **Anais...**, 2005.
- CARVALHO, P.C.F.; RIBEIRO FILHO, H.M.N.; POLI, C.H.E.C.; et al. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. In: PEDREIRA, C.G.S e DA SILVA, S.C (Ed) **A Produção Animal na Visão dos Brasileiros**, Piracicaba: FEALQ, p. 853-871, 2001
- CARVALHO, P.C.F.; TRINDADE, J.K.; Da SILVA, S.C.; BREMM, C.; MEZZALIRA, J.C.; NABINGER, C.; AMARAL, M.F.; CARASSAI, I.J.; MARTINS, R.S.; GENRO, T.C.M.; GONÇALVES, E.N.; AMARAL, G.A.; GONDA, H.L.; POLI, C.H.E.C.; SANTOS, D.T. Consumo de forragem por animais em pastejo: analogias e simulações em pastoreio rotativo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM – INTENSIFICAÇÃO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTO, 2009. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba:FEALQ, 2009

- CHAGAS, L. J. **Teor de proteína no concentrado de vacas no terço inicial da lactação mantidas em pastagens de capim elefante**. 2011, 79f. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- CHANDLER, T. L., AND H. M. WHITE. 2017. Choline and methionine differentially alter methyl carbon metabolism in bovine neonatal hepatocytes. **PLoS One** 12:e0171080.
- CHANDLER, T.L.; WHITE, H.M. Choline and methionine differentially alter methyl carbon metabolism in bovine neonatal hepatocytes. **PLoS ONE**, v.12, n.2, e0171080, 2017
- CHANEY, A.L., MARBACH, E.P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clin. Chem.**, 8:130-132
- CHEN, X.B., GOMES, M.J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication) INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT. Bucksburnd, Aberdeen:**Rowett Research Institute**. 21p
- CHIOGNA, V.; LOPES, F; SCHWAB, C.; TOLEDO, M.; SAENZ, E. Effects of rumen-protected methionine supplementation on the performance of high production dairy cows in the tropics. **PLoS One**. 2021
- CHIZZOTTI, M. L.; Valadares Filho, S. C.; Valadares, R. F. D.; Chizzotti, F. H. M.; Tedeschi, L. O. 2008. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**. 113:218-225.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em vacas de diferentes níveis de produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.138-146, 2007.
- CHURCH, D.C. Digestive physiology and nutrition of ruminants. **Corvallis: Nutrition O&B Books**, 1979. v.2, 564p.
- CLARK, H.; KLUUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Jornal of Dairy Science**, Savoy, v. 75, p. 2304, 1992.
- CORREIA, P. S. **Estratégias de suplementação de bovinos de corte em pastagens durante o período das águas**. 2006. 333p. Dissertação (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- CORSI, M. Pastagens de alta produtividade. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 8.,1986, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1986. p.499-512
- CORSI, M. Produção e qualidade de forragens tropicais. In: SBZ (ed.) **NOVAS TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO ANIMAL**. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p. 177 – 193.

- COSGROVE, G.P. Grazing behavior and forage intake. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO. Viçosa, 1997. **Anais**. Viçosa: UFV, 1997. p. 59-80.
- COSTA, V. A. C., DETMANN, E., PAULINO, M. F., VALADARES FILHO, S. D. C., HENRIQUES, L. T., CARVALHO, I. P. C. D. Total and partial digestibility and nitrogen balance in grazing cattle supplemented with non-protein and, or true protein nitrogen during the rainy season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 12, p. 2815- 282, 2011.
- COWAN, T.T. **Responses to concentrate feeding**. In: High Production Per Cow Seminar, 1990, Sidney. Proceedings... Sidney: Queensland Department of Primary Industries, 1990. p.14-26.
- DA SILVA, S. C.; NASCIMENTO JUNIOR, D. Ecofisiologia de plantas Forrageiras. In: PEREIRA, O. G.; NASCIMENTO JUNIOR, D. FONSECA, D. M. (Ed.) SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3., 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2006. p.1-42.
- DA SILVA, S.C. CORSI, M. Manejo do Pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 20., 2003, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2003. p. 155-186.
- DA SILVA, S.C. Understanding the dynamics of herbage accumulation in tropical grass species: the basis for planning efficient grazing management practices. In: PIZARRO. E., CARVALHO, P.C.F., DA SILVA, S.C. (Eds.) SYMPOSIUM ON GRASSLAND ECOPHYSIOLOGY AND GRAZING ECOLOGY, 2., 2004, UFPR, Curitiba. **Anais...** Curitiba.
- DANÉS, M. A.; CHAGAS, L. J.; PEDROSO, A. M. et al. Effect of protein supplementation on milk production and metabolism of dairy cows grazing tropical grass. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.407-419, 2013.
- DANES, M.A.C. et al. Effect of protein supplementation on milk production and metabolism of dairy cows grazing tropical grass. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.1, p. 401-418, 2013
- DE ASSIS, A.G. Milk production under grazing in Brazil. In: INTERNACIONAL SIMPOSIUM ON ANIMAL PRODUCTION UNDER GRANZING, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Suprema, 1997. p.31-57.
- DEPETERS, E. J.; FERGUSON, J. D. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p.3192-3209, 1992
- DOEPEL, L. et al. Milk protein synthesis as a function of amino acid supply. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 5, p. 1279-1297, May 2004.
- DOEPEL, L.; LAPIERRE, H.; KENNELLY, J. J. 2002. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. **Journal of Dairy Science** 85:2315–2334

- DONALD, Jameson. What Shall We Do about Grazing Item. **Society for Range Management**, v. 8, n. 4, p. 178–179, 1986.
- DONG, X., Z. ZHOU, B. SAREMI, A. HELMBRECHT, Z. WANG, and J. J. LOOR. 2018. Varying the ratio of Lys:Met while maintaining the ratios of Thr:Phe, Lys:Thr, Lys:His, and Lys:Val alters mammary cellular metabolites, mammalian target of rapamycin signaling, and gene transcription. **J. Dairy Sci.**
- EDWARDS, G.R.; PARSONS, A.J. PENNING,P.D.; et al. Relationship between vegetation state and dimensions of sheep grazing contrasting plant species and its implications for intake rate and diet selection. **Grass and Forrage Science**, v.50,p.378-388.1995.
- ERLING, V.R.; LUZ, P.H.C.; ANCHÃO, P.P.O. et al. Pastejo rotacionado: dimensionamento da área, determinação do numero de piquetes e a taxa de lotação instantânea a ser utilizada. In. PEDREIRA, C.G.S.; MOURA, J.C.; DA SILVA, S.C. et al. 22º Simpósio sobre manejo da pastagem: Teoria e pratica da produção animal em pastagens. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005. p.245-278.
- EUCLIDES, V.B.P. Valor alimentício de espécies forrageiras do gênero Panicum. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 12, 1995, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, p.245- 273, 1995.
- EUCLIDES, V.P.B.; MONTAGNER, D.B.; BARBOSA, R.A. et al. Manejo do pastejo de cultivares de *Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf e de *Panicum maximum* Jacq, **Rev. Ceres**, v. 61, Suplemento, p. 808-818, 2014
- FERREIRA, M. A et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa. V. 38 n.8, p. 1568-1573, 2009.
- FREITAS, H.P. 2013. **Substituição de farelo de soja por proteína de leveduras na dieta de vacas em lactação manejadas em pastejo rotacionado**. Dissertação (Mestrado), Escola de Veterinária Universidade Federal Minas Gerais.
- G.A. BRODERICK, T. KOWALCYZ, L.D. SATTER. Milk production response to supplementation with encapsulated methionine per os or casein per abomasum. **J. Dairy Sci.**, 53 (1970), pp. 1714-1721
- GALINDO C, LARSEN M, OUELLET DR, MAXIN G, PELLERIN D, LAPIERRE H. Abomasal amino acid infusion in postpartum dairy cows: Effect on whole-body, splanchnic, and mammary glucose metabolism. **J Dairy Sci**. American Dairy Science Association; 2015;98(11):7962–74.
- GIALLONGO, F., M.T. HARPER, J. Oh, J.C. LOPES, H. LAPIERRE, R.A. PATTON, C. PARYS, I. SHINZATO, and A.N. HRISTOV. 2016. Effects of rumen-protected methionine, lysine, and histidine on lactation performance of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 99:4437–4452.

- GONZÁLEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. et al. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.
- GORDON, L.I.; LASCANO, C. **Foraging strategies of ruminants livestock on intensively managed grassland: potential and constrains**. In: Palmerston North, New Zealand, 1993. p. 681-690.
- GRECO, L. F. Suplementação de vacas HPB e vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagem tropical com o éster isopropílico do análogo de metionina (HMBi). 2008. 80 p. **Dissertação (Mestrado em Agronomia)** - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2008.
- HACK, E.C. **Variações estruturais e produção de leite na pastagem de capim mombaça**. Curitiba, 2004, 48f. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná.
- HAMMOND, A.C. **Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle**. In: **Florida Ruminant Nutrition Symposium**, 1997. Gainesville: University of Florida. Proceedings...
- HAYES, D. P., D. U. PFEIFFER, and N. B. WILLIAMSON. 1996. Effect of intraruminal monensin capsules on reproductive performance and milk production of dairy cows fed pasture. **J. Dairy Sci.** 79:1000–1008
- HERLIG, V. R.; LUZ, P. H. C. ANCHÃO, P. P. O. MARCHESIN, W. A. MACEDO, F. B. ALVES, A. C. Manejo do pasto com vistas a maximizar a produção de ruminantes. In: **VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES**, 2005, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: Funep, 2005. p. 125-158
- HODGSON, J. **Grazing management – science into practice**. New York: John Wiley & Sons, Inc., **Longman Scientific & Technical**. 1990. 203p.
- HODGSON, J. The controlo f herbage intake in the grazing ruminant. **Procedings of the Nutrition Society**, v. 44, p. 339-346. 1985.
- HODGSON, J.; BROOKES, I.M. Nutrition of grazing animals. In: WHITE J.; HODGSON, J. (Ed.) **New Zealand Pasture and Crop Science**. New York: Oxford University, p.117-132, 1999.
- HOLTER, J.B.; URBAN JR., W.E. Water partitioning and intake prediction in dry and lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.6, p.1472– 1479, 1992
- KAUFMAN, J.; BAILEY, H.; BARTON, B.; ZIMMERMAN, C.; ESTES, K.; RIUS, A. Comparison of two sources and levels of rumen-protected methionine on plasma concentration and mammary clearance of methionine and milk production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.102, (Suppl. 1), p.77, 2019.

- KRAWCZEL, P. & GRANT, R. (2009). Effects of cow comfort on milk quality, productivity and behavior. **Proceedings of the NMC Annual Meeting**, Charlotte, NC, USA.
- KROLOW, R. H., SILVA, M. A. D., PAIM, N. R., MEDEIROS, R. B. D., VELHO, I. M. P. H. Comportamento ingestivo de vacas leiteiras em pastagem de azevém alimentadas com diferentes fontes proteicas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 3, p. 845-852, 2014.
- KURDNA, V.; ILLEK, J.; MAROUNEK, M.; NGOC, A.N. Feeding ruminally protected methionine to pre and postpartum dairy cows: effect on milk performance, milk composition and blood parameters. **Czech Journal of Animal Science**, v.54, n.9, p.395–402, 2009
- KURDNA, V.; ILLEK, J.; MAROUNEK, M.; NGOC, A.N. Feeding ruminally protected methionine to pre and postpartum dairy cows: effect on milk performance, milk composition and blood parameters. **Czech Journal of Animal Science**, v.54, n.9, p.395–402, 2009.
- LACERDA, M.J.R, FREITAS, K.R, DA SILVA J.W. Determinação da matéria seca de forrageiras pelos métodos de microondas e convencional. **Bioscience Journal**. 2009 Jun [citado 2016 Dez 18]; 25(3):185-190. Português.
- LAPIERRE, H. et al. What is the true supply of amino acids for a dairy cow? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. E1-E14, 2006. Supplement
- LEÃO, G.F.M.; DOREA, J.R.R.; DANES, M.C.A. Factors affecting performance responses to supplementation of rumen-protected methionine for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100 (Suppl. 2), p.93-94, 2017
- LEE S, YOO M, SHIN D (2015) The identification and quantification of biogenic amines in Korean turbid rice wine, Makgeolli by HPLC with mass spectrometry detection. **Lebensmittel–Wissenschaft + Technologie** 62, 350–356
- LIMA, M.L.P.; BERCHIELLI, T.T.; LEME, P.R., et al. Concentração de Nitrogênio Uréico Plasmático (NUP) e Produção de Leite de Vacas Mestiças Mantidas em Gramíneas Tropicais sob Pastejo Rotacionado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.1616-1626, 2004.
- LISTA F. N. et al. Avaliação de métodos de amostragem qualitativa em pastagens tropicais manejadas em sistema rotacionado. **R. Bras. Zootec.**, v.36, n.5, p.1413-1418, 2007.
- LOPES, C.J. 2011, 131p. Nutrient composition and fiber digestibility measurements of tropical forages collected from intensively managed rotational grazing systems. **Dissertação (Mestrado - Dairy Science)** University of Wisconsin, Madison.
- LOPES, M.N.; CÂNDIDO, M.J.D.; POMPEU, R.C.F.; SILVA, R.G.; LOPES, J.W.B.; FERNANDES, F.R.B.; LACERDA, C.F.; BEZERRA, F.M.L. Fluxo de biomassa em

- capim-massai durante o estabelecimento e rebrotação com e sem adubação nitrogenada. **Revista Ceres**, v.60, p.363-371, 2013
- MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Diagnóstico da qualidade do leite na Região Sudeste. In: MESQUITA, A.J.; DURR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e Avanços na Qualidade do Leite no Brasil**. Goiânia: Talento, v.1, p. 55-72. 2006
- MALACCO V.M.R. 2016. **Substituição parcial do farelo de soja por farelo de soja tratado com amino resina na dieta de vacas F1 Holandês x Gir manejadas em pastejo rotacionado**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- MARTINEZ, J.C. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica peletizada no concentrado de vacas leiteiras mantidas em pastagens de capim elefante durante o outono – inverno**. 2004. 121f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- MARTÍNEZ, Y.; LI, X.; LIU, G.; et al. The role of methionine on metabolism, oxidative stress and diseases. **Amino Acids**, v. 49, n. 12, p. 2091-2098, 2017.
- MATHEWS, B.W.; SOLLENBERGER, L.E. Grazing systems and spatial distribution of nutrients in pastures: soil considerations. In: **NUTRIENT CYCLING IN FORAGE SYSTEMS**. 1996, Columbia. **Proceedings...** Columbia: University of Missouri, 1996. p.213-229.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MEYER, P.M.; MACHADO, P.F.; COLDEBELLA, A. et al. Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio uréico no leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1114-1121, 2006 (supl.).
- MIRANDA, P. A. B., FIALHO, M. P. F., SALIBA, E. O. S., OLIVEIRA, L. O. F., COSTA, H. H. A., LOPES, V. E. S., SILVA, J. J. Consumo, degradabilidade in situ e cinética ruminal em bovinos suplementados com diferentes proteinados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 2, p. 573-582, 2015.
- MOORBY, J.M., DEWHURST, R.J., EVANS, R.T. & DANELÓN, J.L., 2006. Effects of dairy cow diet forage proportion on duodenal nutrient supply and urinary purine derivative excretion. **J. Dairy Sci.** 89, 3552-3562.
- MOURA, A.M. et al. Processamento do milho para vacas leiteiras em pastejo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.6, p.1813-1821, 2014.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, n.1, p.179-183, 2004.

- Nan X, Bu D, Li X, Wang J, Wei H, Hu H, et al. Ratio of lysine to methionine alters expression of genes involved in milk protein transcription and translation and mTOR phosphorylation in bovine mammary cells. **Physiol Genomics**; 2014; 46(7):268–75
- NENNICH TD, HARRISON JH, VANWIERINGEN LM, ST-PIERRE NR, KINCAID RL, WATTIAUX MA, DAVIDSON DL, Block E (2006) Prediction and evaluation of urine and urinary nitrogen and mineral excretion from dairy cattle. **J Dairy Sci** 89:353–364
- NEVES, M. L. M. W.; AZEVEDO, M.; COSTA, L. A. B. et al. Níveis críticos do índice de conforto térmico para ovinos da raça Santa Inês criados a pasto no agreste do estado de Pernambuco. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, v.31, n. 2, p.169-175, 2009.
- OETZEL G.R. & GOOF J.P. 2008. Milk fever (parturient paresis) in cows, ewes, and doe goats, p.130-134. In: Andersen D.E. & Rings M. (Eds), **Current Veterinary Therapy Food Animal Practice**. 5th ed. W.B. Saunders, St Louis
- OLIVEIRA A.S., CAMPOS J.M.S., VALADARES FILHO S.C., ASSIS A.J., TEIXEIRA R.M.A., RENNÓ L.N., PINA D.S. & OLIVEIRA G.S. 2007. Substituição do milho pela casca de café ou de soja em dietas para vacas leiteiras: comportamento ingestivo, concentração de nitrogênio ureico no plasma e no leite, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revta Bras. Zootec**. 36(1):205-215
- OLIVEIRA, J. P. P. **Desempenho de vacas mestiças (Holândes X Gir) em pastejo rotacionado, de Panicum maximum cv. Mombaça suplementadas com diferentes fontes de carboidratos e proteína não degradável no rúmen**. Belo Horizonte. 2011. 62 p. Dissertação(Mestrado)– Escola de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2011.
- OLMOS-COLMENERO,J.J.; BRODERICK, G.A. Effect of dietary crude protein concentration on ruminal nitrogen metabolism in lactating dairy cows. **J. Dai. Sci.**, Champaign, v.89, n.5, p.1694-1703, 2006.
- ORDWAY R.S., BOUCHER S.E., WHITEHOUSE N.L., SCHWAB G.C., SLOAN B.K. (2009): Effects of providing two forms of supplemental methionine to periparturient Holstein dairy cows on feed intake and lactational performance. **Journal of Dairy Science**, 92, 5154–5166.
- OSORIO, J. S., P. JI, J. K. DRACKLEY, D. LUCHINI, and J. J. LOOR.. Smartamine M and Metasart supplementation during the periparturient period alter hepatic expression of gene networks in 1-carbon metabolism, inflammation, oxidative stress, and the growth hormone-insulin-like growth factor 1 axis pathway. **J. Dairy Sci**. 2014; 97:7451-7464.
- OSORIO, J. S., P. JI, J. K. DRACKLEY, D. LUCHINI, and J. J. LOOR. 2013. Supplemental Smartamine M® or MetaSmart® during the transition period benefits postparturient cow performance and blood neutrophil function. **J. Dairy Sci**. 96:6

- P. LETELIER, G.I. ZANTON, J.R.R. DOREA, M.A. WATTIAUX. Supporting dataset for: “Plasma essential amino acid concentration and profile are associated with performance of lactating dairy cows as revealed through meta-analysis and hierarchical clustering.” **Zenodo (2022)**
- PATE, R.T., LUCHINI, D., MURPHY, M.R., CARDOSO, F.C. 2020. Effects of rumen-protected methionine on lactation performance and physiological parameters during a heat stress challenge in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**. 103:2800–2813.
- PATTON, R A. Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. **J Dairy Sci**. 2010; 93: 2105–2118.
- PENATI, M.A.; CORSI, M.; DIAS, C.T.S. Efeito do número de amostras e da relação dimensão-formato da moldura sobre o coeficiente de variação na determinação da massa de forragem em pastagens de capim Tanzânia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30. 2001, Piracicaba. **Anais...Piracicaba: SBZ, 2001**. P.46.
- PIMENTEL, J. J. O.; LANA, ROGERIO DE PAULA; TEIXEIRA, R.M.A ; ZAMPERLINI, B. ; SOBREIRA, H. F. ; PAULINO, M. F. ; LEAO, M. I. ; OLIVEIRA, A. S. . Produção de leite em função de níveis de suplementação com concentrado para vacas leiteiras sob pastejo. In: 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006, João Pessoa. 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2006.
- PIRES, A.V.; EASTRIDGE, M.L.; FIRKINS, J.L.; LIN, Y.C. Effects of heat treatment and physical processing of cottonseed on nutrient digestibility and production performance by lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 80, p. 1685-1685, 1997.
- PISULEWSKI, P.M., RULQUIN, H., PEYRAUD, J.L. et al. 1996. Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine. **J. Dairy Sci.**, 79(10):1781-91.
- POPPI, D.P.; HUGHES, T.P.; HUILLIER P.J. Intake of pasture by grazing ruminants. In: Feeding on Pasture. Hamilton: **New Zealand Society Animal Production**, 1987. p.55.
- PSZCZOLKOWSKI VL, HU H, ZHANG J, CONNELLY MK, MUNSTERMAN AS, ARRIOLA APELO SI. Effects of methionine, leucine, and insulin on circulating concentrations and mammary extraction of energy substrates and amino acids in lactating dairy cows. **Domest Anim Endocrinol**. 2022 Oct;81:106730. doi: 10.1016/j.domaniend.2022.106730. Epub 2022 Apr 14. PMID: 35580513.
- QUADROS, D.G. et al. Componentes da produção de forragem em pastagens dos capins Tanzânia e Mombaça adubadas com quatro doses de NPK. **Rev Bras Zootec.**, v.31, n.3, p.133- 1342, 2002.

- RAGGIO, G., PACHECO, D., BERTHIAUME, R., LOBLEY, G.E., PELLERIN, D., ALLARD, G., DUBREUIL, P. & LAPIERRE, H., 2004. Effect of level of metabolizable protein on splanchnic flux of amino acids in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 87(10), 3461-3472.
- RAVERA, B.L., BRYANT, R.H., CAMERON, K.C., DI, H.J., EDWARDS, G. & SMITH, N.P., 2015, June. Use of a urine meter to detect variation in urination behaviour of dairy cows on winter crops. **New Zeal. Soc. Anim. Prod.** 7, 1057-1064
- REIS, R.A.; DA SILVA, S. C. Consumo de forragens. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 2ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011. P.83-109.
- REIS, R.A.; Da SILVA, S.C. 2006. Consumo de forragens. In: BERCHIELLI, T. T. et al (Eds.) **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP. P. 79-110.
- REIS, R.B.; SOUSA, B.M. Suplementação de vacas leiteiras em pastagem manejada intensivamente. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 6.,2008. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 151-181.
- RIBEIRO, L.; SILVA, M.G. B.; MEIRELLES, P.R.L. et al. Interactions between animals and plants and their importance to forage intake. **Rev. Port. Cien. Vet.** p.5-13, 2012.
- RODRIGUES, M. M. et al. Forage intake and behavior of goats on Tanzania-grass pasture at two regrowth ages. Acta Scientiarum: **Animal Sciences**, v. 35, n.1, p. 37-41, 2013.
- RODRIGUES, P.B.; BERTECHINI, A.G.; OLIVEIRA, B.L. et al. Fatores nutricionais que influenciam a qualidade do ovo no segundo ciclo de produção e níveis de aminoácidos sulfurosos totais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.2, p.249-260, 1996.
- RUEEG, P.L.; GOODGER, W.J.; HOLMBERG, C.A. et al. Relation among body condition score, serum urea nitrogen and cholesterol concentrations, and reproductive performance in high-producing Holstein dairy cows in early lactation. **American Journal of Veterinary Research**, v.53, n.1, p.10-14, 1992.
- RULQUIN, H. et al. Effect of different forms of methionine on lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 11, p. 4387-4394, Nov. 2006
- RULQUIN, H., DELABY, L. 1994. Lactational response of dairy cows to graded amounts of rumen-protected methionine. **J. Dairy. Sci.**, 72(suppl. 1):91.
- RULQUIN, H.; PISULEWSKI, P.M.; VÉRITÉ, R.; GUINARD, J. Milk production and composition as a function of post-ruminal lysine and methionine supply: a nutrient response approach. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 37, p. 69-90, 1993.
- SA Burgos , M. Dai , JP Cant. Disponibilidade de nutrientes e hormônios lactogênicos regulam a síntese de proteínas mamárias através do alvo mamífero da via de sinalização da rapamicina. **J. Dairy Sci.** , 93 (2010) , págs . 153-161

- SAINT-PIERRE, N. R.; SYLVESTER, J. T. Effects of 2-hydroxy-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.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P. et al. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. In: **Revista brasileira de zootecnia**. V. 40; p. 174-182, 2011.
- SAMUELSON, D.J.; DENISE, S.K.; ROFFLER, R.; AX, R.L.; ARMSTRONG, D.V.; ROMAGNOLO, D.F. Response of Holstein and Brown Swiss cows fed alfalfa haybased diets to supplemental methionine at two stages of lactation. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.4, p. 917-928, 2001
- SANCANARI, J.B.D. et al. Efeito da metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção e composição do leite de vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.1, p.286-294, 2001
- SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G (Eds.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Fundep, 2006. p.255-286.
- SANTOS, F.A.P.; DANÉS, M.A.C.; MACEDO, F.L.; CHAGAS, L.J. Manejo alimentar de vacas em lactação em pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 9, 2011, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2011. p.119-158
- SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C; VOLTOLINI, T.V.; NUSSIO, C.M.B. Utilização da suplementação com concentrado para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais. In: Simpósio Goiano Sobre Manejo E Nutrição De Bovinos De Corte E Leite, 5., 2003, Goiânia. **Anais...** Goiânia: CBNA, 2003. p.289-346.
- SANTOS, F.A.P.; PEDROSO, A.M.; MARTINEZ, J.C.; PENATTI, M.A. Utilização da suplementação com concentrados para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5. 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005. P. 219-294.
- SANTOS, P.M. Estudo de algumas características agrônômicas de *Panicum maximum* (Jacq.) cvs. Tanzânia e Mombaça para estabelecer seu manejo. Piracicaba, 1997. **Dissertação (M.S.)** – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP.
- SCHIO, A. R., VELOSO, C. M., SILVA, F. F., ÍTAVO, L. C. V., MATEUS, R. G., SILVA, R. R. Ofertas de forragem para novilhas nelore suplementadas no período de seca e transição seca/águas. *Acta Scientiarum*. **Animal Sciences**, v. 33, n. 1, p. 9-17, 2011.
- SCHWAB, C. G. 2007. Protected proteins and amino acids for ruminants. In: **Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding**, p.115-141. Wiley-VCH Verlag GmbH.
- SCHWAB, C. G., BOZAK, C. K. AND WHITEHOUSE, N. L. (1992): Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation. **J. Dairy Sci.** 75, 3486–3502.

- SCHWAB, C.G., AND G.A. BRODERICK. 2017. A 100-Year Review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 100:10094–10112. doi:10.3168/jds.2017-13320.
- SCHWAB, C.G.; SATTER, L.D.; CLAY, A.B. Response of lactating dairy cows to abomasal infusion of amino acids. **Journal of Dairy Science**. Albany, v. 59, p. 1254-1270, 1976.
- SILVA, J. A., SILVA, C. G. M., DE PAULA SOUSA, D., DE PAULA, N. F., DA SILVA CARVALHO, A. P., MACEDO, B. G., DA COSTA JÚNIOR, W. S., Bianchi-Zanette, I. E., Costa, R. V., Teobaldo, R. W. Supplementation strategies for dairy cows kept in tropical grass pastures. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 38, n. 1, p. 401-416, 2017.
- SILVA, S.C. 2006. Comportamento animal em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 20. Piracicaba, 2006, **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2006, p. 1-33
- SOCHA, M. T.; PUTNAM, D. E.; GARTHWAITE, B. D.; WHITEHOUSE, N. L.; KIERSTEAD, N. A.; SCHWAB, C. G.; DUCHARME, G. A.; ROBERT, J. C. Improving Intestinal Amino Acid Supply of Pre- and Postpartum Dairy Cows with Rumen Protected Methionine and Lysine., **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 3, p. 1113– 1126, 2005.
- SOCHA, M.T.; SCHWAB, C.G.; PUTNAM, D.E. et al. Extent of methionine limitation in peak-, early-, and mid-lactation dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.91, p.1996-2010, 2008
- STORM, E. AND ORSKOV, E. R. 1983. The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 1. Large scale isolation and chemical composition of rumen micro-organisms. **British Journal of Nutrition** 50:463-470.
- SUN F, CAO Y, CAI C, LI S, YU C, YAO J. Regulation of nutritional metabolism in transition dairy cows: Energy homeostasis and health in response to postruminal choline and methionine. **PLoS One**. 2016;11(8):1–27
- TEIXEIRA, I.A.M.A.; YODER, P.S.; HUANG, E.; HUANG, X.; HANIGAN, M.D. Essential amino acids influence milk fat synthesis in mammary epithelial cells. **Journal of Dairy Science**, v.102, (Suppl. 1), p.119, 2019
- TREVASKIS, L.M.; FULKERSON, W.J. The relationship between various animal and management factors and milk urea, and its association with reproductive performance of dairy cows grazing pasture. **Livestock Production Science** , v.57, p.255-265, 1999.
- VAILATI-RIBONI, M.; ZHOU, Z.; JACOMETO, C. B.; et al. Supplementation with rumen-protected methionine or choline during the transition period influences whole-blood immune response in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3958-3968, 2017.
- VALADARES, R.F.D., BRODERICK, G.A., VALADARES FILHO, S.C. et al. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **J. Dairy Sci.**, 82(12):2686-2696

- VAN SOEST, P.J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: Voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**, Albany, v.24, n.3, p.834-843, 1965.
- 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**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VERBIC, J. 2002. Factor affecting microbial protein synthesis in the rumen with emphasis on diets containing forages. *Viehwirtschaftliche Fachtagung*, **BAL Gumpenstein**. 29:1-6.
- VOLTOLINI, T. V.; SANTOS, F. A. P.; MARTINEZ, J. C. et al. Metabolizable protein supply according to the NRC (2001) for dairy cows grazing elephant grass. **Scientia Agricola**, v.65, p.130-138, 2008.
- VOLTOLINI, T. V.; SANTOS, F. A. P.; MARTINEZ, J. C. et al. Produção e composição do leite de vacas mantidas em pastagens de capim-elefante submetidas a duas frequências de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.121-127, 2010
- VOLTOLINI, T. V.; SANTOS, F. A. P.; MARTINEZ, J. C.; IMAIZUMI, H.; PENATI, M. A. Teores de proteína bruta para se atingir a adequação em proteína metabolizável na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens de capim Elefante. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais ...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CDROM
- WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; ST. PIERRE, N.R. A therotically-based model for predicting total digestible nutrient values of forage and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, v.39, p.95-110, 1992
- WILSON, J.R. Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. In: HACKER, J.B., ed. *Nutritional limits to animal production from pastures*. **Farnham Royal: CAB**, p. 111-113, 1982
- WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1997. P. 173-208.
- WM Seymour , CE Polan , JH Herbein. Efeitos da degradabilidade da proteína dietética e infusões de caseína ou aminoácidos na produção e aminoácidos plasmáticos em vacas leiteiras. **J. Dairy Sci.** , 73 (1990) , págs . 735-748
- WU G (2013) **Amino acids: biochemistry and nutrition**. CRC Press, Boca Raton
- XU, W., Vervoort, J., Saccenti, E., Kemp, B., van Hoeij, R.J. & Van Kneysel, A.T., 2020. Relationship between energy balance and metabolic profiles in plasma and milk of dairy cows in early lactation. **J.Dairy Sci**, 103, 4795-4805.

- ZANTON, G.I.; BOWMAN, G.R.; VAZQUEZ-AÑÓN, M.; RODE, L.M. Meta-analysis of lactation performance in dairy cows receiving supplemental dietary methionine sources or postprandial infusion of methionine. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.7085-7101, 2014.
- ZHOU Z, VAILATI-RIBONI M, TREVISI E, DRACKLEY JK, LUCHINI DN, LOOR JJ. Better postpartal performance in dairy cows supplemented with rumen-protected methionine compared with choline during the peripartal period. **J Dairy Sci**. 2016; 99: 8716–8732.
- ZHOU, Z., BULGARI, O., VAILATI-RIBONI, M., TREVISI, E., BALLOU, M.A., CARDOSO, F.C., LUCHINI, D.N., & LOOR, J.J. (2016). Rumen-protected methionine compared with rumen-protected choline improves immunometabolic status in dairy cows during the peripartal period. **Journal of Dairy Science**. 99(11). p. 8956–8969.
- ZINN, R.A.; OWENS, F.N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. **Canadian Journal of Animal Science**, v.66, n.1, p.157-166, 1986.
- ZOM RLG, VAN BAAL J, GOSELINK RMA, BAKKER JA, DE VETH MJ, VAN VUUREN AM. Effect of rumen-protected choline on performance, blood metabolites, and hepatic triacylglycerols of periparturient dairy cattle. **J Dairy Sci**. 2011; 94:4016–27.