



DOBEREINER HEIDERICH

**EFEITO DO ESTÁGIO FISIOLÓGICO SOBRE A
TAXA DE *TURNOVER* PROTEICO E AS
EXIGÊNCIAS DE PROTEÍNA PARA
MANTENÇA DE BOVINOS NELORE**

LAVRAS – MG

2014

DOBEREINER HEIDERICH

**EFEITO DO ESTÁGIO FISIOLÓGICO SOBRE A
TAXA DE *TURNOVER* PROTEICO E AS EXIGÊNCIAS DE PROTEÍNA
PARA MANTENÇA DE BOVINOS NELORE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em produção animal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Mario Luiz Chizzotti

LAVRAS – MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Heiderich, Dobereiner.

Turnover protéico e exigências de proteína para manutenção de
bovinos em crescimento e terminação / Dobereiner Heiderich. –
Lavras : UFLA, 2014.

39 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Mario Luiz Chizzotti.

Bibliografia.

1. Metil-histidina. 2. Metabolismo. 3. Bovino - Crescimento. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.20852

DOBEREINER HEIDERICH

**EFEITO DO ESTÁGIO FISIOLÓGICO SOBRE A
TAXA DE *TURNOVER* PROTEICO E AS EXIGÊNCIAS DE PROTEÍNA
PARA MANTENÇA DE BOVINOS NELORE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em produção animal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 12 de agosto de 2013.

Dr. Sebastião de Campos Valadares Filho	UFV
Dr. Márcio Machado Ladeira	UFLA
Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto	UNESP - BOTUCATU

Dr. Mário Luiz Chizzotti
Orientador

LAVRAS – MG

2013

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, que é a melhor pessoa que eu já conheci, e a grande responsável por esse momento.

A Josi, sempre ao meu lado me encorajando, motivando e ajudando.

À minha irmã Hathália, ao Flávio e meus sobrinhos, e a todos os primos, tios e afilhados, que me fazem entender a cada dia mais o valor da família.

Aos meus amigos verdadeiros, irmãos que, felizmente, encontrei no percorrer do caminho.

À Tia Dalena, por toda sua atenção e palavras doces em todos os momentos.

À Vó Leta, por todo seu carinho e proteção.

Ao Vô Braz, exemplo de retidão. Sempre que tenho que tomar alguma decisão, penso no que o senhor me aconselharia para seguir um caminho correto.

Ao meu pai Zezé, grande parceiro e incentivador, tem muita coisa boa sua em mim.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do presente trabalho e ao CNPq pelo financiamento.

Ao NEPEC, pela inigualável oportunidade de aprendizado, por todos excelentes colegas de profissão que ali fiz e pelas grandes amizades que vou levar para a vida.

Ao Professor Mário Chizzotti, por ter me aceitado como seu orientado e pelos conhecimentos transmitidos.

A todos os professores da Universidade Federal de Lavras e da Universidade Federal de Viçosa, por sua contribuição para minha formação.

Ao Borginho e todos os funcionários do Departamento de Zootecnia, pelo auxílio fundamental para a realização desse trabalho.

A todos os estagiários e bolsistas, pelo comprometimento, pelo grande auxílio na condução experimental e pela amizade.

A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e para fazer deste sonho uma realidade.

E a Deus, por todas as bênçãos ao longo desta estrada, espero continuar sendo merecedor.

AUTOBIOGRAFIA

DOBEREINER HEIDERICH, filho de Hitler Heiderich e Cleuza Fernandes de Almeida, nasceu em Ponte Nova, Minas Gerais, em 1º de agosto de 1983.

Em Julho de 2010, graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em março de 2011, iniciou o programa de Pós-Graduação, em nível de mestrado, em Zootecnia, na Universidade Federal de Lavras, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação, em 27 de agosto de 2013.

RESUMO

Conduziu-se, este trabalho, com o objetivo de avaliar o efeito do estágio fisiológico de bovinos nelore sobre a taxa de turnover proteico e as exigências de proteína para manutenção. Foram utilizados 18 bovinos da raça Nelore, machos, não castrados, com peso vivo médio inicial de 320 kg, na primeira fase, 400 kg na segunda e 480 kg na terceira, submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína bruta (10, 14 e 18% de proteína bruta, PB, na matéria seca, MS). A relação volumoso: concentrado foi de 60:40. Cada período experimental teve duração de 14 dias, sendo nove para adaptação às dietas e cinco dias de coletas totais de fezes e urina. Os animais foram alocados em cada faixa de peso (320, 400 e 480 kg) em seis quadrados latinos 3 x 3, sendo três tratamentos (níveis de PB), três períodos experimentais (em cada fase) e três animais (repetições). O consumo de nitrogênio, assim como as excreções fecais e urinárias, foram influenciados pelas dietas. Houve interação entre a dieta e a faixa de peso avaliada para o balanço de N e excreção urinária de N. A excreção urinária de 3 metil-histidina (3MH), em mg de 3MH/ kg de peso corporal, foi menor nos animais com peso médio de 480 kg em relação aos de 320 kg. A excreção de 3MH foi positivamente correlacionada com o teor de PB dietética. Os animais apresentaram uma diminuição de retenção de N/kg de peso vivo corporal, em função tanto do N ingerido quanto do absorvido. O intercepto da regressão do N retido em função do N ingerido, em g/kg PB/dia, diminuiu com o aumento da faixa de peso dos animais, assim como a eficiência de utilização dos aminoácidos absorvidos.

Palavras-chave: Metil-histidina. Metabolismo. Crescimento.

ABSTRACT

This work was conducted to evaluate the physiological stage of Nellore cattle over the protein turnover rate and the requirements of protein for maintenance. Eighteen non-castrated bulls of the Nellore breed were used, with initial average live weight of 320 kg in the first phase, with 400 kg in the second phase and with 480 kg in the third phase, and were fed diets containing different crude protein levels (10, 14 and 18% crude protein - CP in the dry matter – DM). The forage: concentrate ratio was of 60:40. Each experimental period (of phase one, two and three) lasted 14 days, being days nine for adaptation to the diets and five for total collection of feces and urine. The animals were allocated in six 3x3 latin squares per phase (320, 400 and 480 kg), with three treatments (CP levels), three experimental periods (in each phase) and three animals (replicates). Nitrogen intake, as well as fecal and urine excretions, were influenced by the diets. Interaction occurred between the diet and the evaluated weight range for N balance and N urine excretion. The urine excretion of 3 methyl-histidine (3MH), in mg of 3MH/kg of body weight, was lower in the animals with average weight of 480 kg in relation to those with 320 kg. The excretion of 3MH was positively correlated with the diet CP content. The animals presented a decrease in N retention /kg of body weight. The intercept of retained N regression in function of the ingested N, in g/kg CP/day, decreased with the increase of the weight range, as occurred with the efficiency of use of absorbed amino acids.

Keywords: Methyl-histidine. Metabolism. Growth.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Regressão do N retido em função do N ingerido, em g/kg PB/dia, em bovinos alimentados com diferentes teores proteicos em diferentes faixas de peso corporal28
Figura 2	Regressão do N retido em função do N absorvido, em g/kg PB/dia, em bovinos alimentados com diferentes teores proteicos em diferentes faixas de peso corporal29
Figura 3	Exigências de proteína líquida (PLm) e metabolizável (PMm), para manutenção e eficiência de utilização da proteína metabolizável (k) em função do peso corporal de bovinos (kg PV).....30
Figura 4	Exigências de proteína líquida (PLm) e metabolizável (PMm) para manutenção e eficiência de utilização da proteína metabolizável (k) em função do peso corporal de bovinos ($PV^{0,75}$).32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Proporção dos ingredientes nos concentrados, expressos na base da matéria seca (g/kg de MS), em função dos níveis de proteína bruta nas dietas.....	19
Tabela 2	Consumo, excreção fecal, excreção urinária, absorção e balanço de N, em g/kg PV, de novilhos Nelore submetidos a diferentes níveis de PB na dieta em diferentes faixas de peso	24
Tabela 3	Excreção urinária de 3 metil-histidina (3MH) em bovinos alimentados com diferentes níveis de PB em diferentes faixas de peso	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5	CONCLUSÕES.....	33
	REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

As pesquisas sobre exigências nutricionais de bovinos em crescimento no Brasil iniciaram-se em 1980. Desde então, foram desenvolvidos diversos experimentos para determinar o desempenho, a composição corporal, o ganho de peso e as exigências nutricionais de bovinos em confinamento ou em crescimento/terminação em pastagem (LANA, 2005).

Em sistemas de produção de gado de corte, os custos com alimentação animal podem representar 70 a 90% dos custos operacionais totais, dependendo da fase de criação e do nível de produção desejado (VALADARES FILHO et al., 2005). O conhecimento das exigências de proteína para manutenção pode resultar em economia nos custos com formulação de dietas, pela utilização de valores precisos para as exigências, considerando o elevado custo das fontes proteicas.

A proteína é o segundo nutriente mais exigido pelos ruminantes, sendo a energia o mais requerido. As exigências proteicas dos ruminantes são atendidas mediante a absorção intestinal de aminoácidos provenientes, principalmente, da proteína microbiana sintetizada no rúmen e da proteína dietética não degradada no rúmen (VALADARES FILHO; VALADARES, 2001).

O aminoácido 3-metil-histidina origina-se da actina e certas espécies de cadeia pesada da miosina e, durante o catabolismo de proteínas miofibrilares, ele é liberado e excretado na urina e não é reutilizado para a síntese proteica nem metabolizado oxidativamente (GOPINATH; KITTS, 1984).

A excreção urinária do metabolito de 3-Metil-Histidina tem sido utilizada como um índice de degradação proteica em bovinos (YAMBAYAMBA; FOXCROFT, 1996). Harris e Milne (1981) reportaram que mais de 90% da Metil-Histidina origina-se da proteólise muscular e que esse metabolito não é reutilizado pelo organismo sendo rapidamente eliminado na

urina, o que credencia esse metabólito como um indicador da degradação proteica animal. A taxa de síntese muscular eleva a taxa de reciclagem proteica (ou *turnover*) e como essa é amplamente dependente da composição do ganho que, por sua vez é dependente do estágio de maturidade do animal, o peso vivo do animal pode ter influência sobre a taxa de *turnover* proteico e o balanço de nitrogênio.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A alimentação corresponde pela maior parcela dos custos operacionais da produção de ruminantes, sendo a proteína o nutriente, individualmente, mais oneroso. O correto balanceamento proteico possibilita a otimização das dietas e permite a maximização dos lucros em virtude da minimização dos custos por unidade do produto final. Com uma produtividade média de quatro arrobas de carne/ha/ano, a atividade de pecuária de corte precisa e vem passando por uma nova fase de transformações profundas, baseadas em uso de tecnologias de produção que possibilitem não só incrementos em produtividade, mas principalmente, em maior rentabilidade ao pecuarista. Além disso, o correto atendimento das exigências nutricionais em proteína colabora para a redução da excreção de N no meio ambiente. Sendo assim, o conhecimento das exigências proteicas e o seu correto atendimento trazem benefícios econômicos e ambientais.

A maior parte da proteína ingerida é utilizada para fins de manutenção em animais em crescimento. Segundo o sistema BR-CORTE (VALADARES FILHO et al., 2010), um bovino Nelore inteiro de 400 kg, com ganho médio diário de 1kg, utiliza 51% da proteína metabolizável total como proteína metabolizável de manutenção, demonstrando a importância do correto atendimento dessa fração. Entretanto, os estudos envolvendo exigências nutricionais de proteína para manutenção são escassos, embora exista abundância de dados envolvendo as exigências de proteína para ganho (GONÇALVES et al., 1988; LANA et al., 1992; PIRES et al., 1993; SOARES, 1994; BOIN, 1995; FONTES, 1995; FREITAS, 1995; ARAÚJO et al., 1998; ESTRADA et al., 1997; FERREIRA et al., 1999; PAULINO et al., 1999; ROCHA; FONTES, 1999; SIGNORETTI et al., 1999; VÉRAS et al., 2000; BACKES et al., 2002; BULLE

et al., 2002; SILVA; QUEIROZ, 2002; VELOSO et al., 2002; CARVALHO et al., 2003; PAULINO et al., 2003).

A demanda de proteína para manutenção de um bovino corresponde às perdas metabólicas fecais e urinárias, além das de proteína por descamação (AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL, 1993). A quantificação dessas perdas é relativamente difícil, principalmente em relação às perdas metabólicas fecais, uma vez que é necessário separar as perdas microbianas nas fezes das verdadeiras perdas metabólicas fecais, o que exige um procedimento mais laborioso. O teste de Lucas (HAMM, 1961), que consiste na regressão do N aparentemente digerido em função do N consumido, pode estimar a contribuição metabólica fecal.

Para determinar as exigências de proteína metabolizável (PM), que englobam a proteína não degradada no rúmen digestível e a proteína microbiana verdadeira digestível, é necessário o conhecimento da eficiência parcial de utilização da proteína metabolizável para manutenção (k), que pode ser considerada como a inclinação da regressão da proteína retida em função do consumo de proteína metabolizável. Oldham (1987) sugeriu ainda uma eficiência de 0,85 para todas as funções fisiológicas, como um valor referente à eficiência de conversão de uma mistura ideal de aminoácidos, entretanto a literatura reporta valores de eficiência sempre abaixo dessa recomendação teórica (VALADARES FILHO et al., 2010). O INRA (INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE, 1988) utiliza uma k variável, a medida que se aumenta o peso corporal. Ainslie et al. (1993) confirmaram essa eficiência decrescente para ganho de peso, de acordo com a seguinte equação: $k = 83,4 - (0,114 \times \text{Peso corporal})$. Já o AFRC (AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL, 1993) considera uma eficiência de utilização da PM fixa de 1,0 para manutenção, 0,59 para ganho, 0,85 para gestação, 0,68 para lactação e 0,26 para produção de lã. Valadares Filho et al. (2010) reportaram que

os resultados de eficiência de uso da PM obtidos no Brasil são escassos e que, geralmente, são inferiores à média reportada na literatura internacional. Embora a comunidade científica reconheça que o peso e/ou a maturidade fisiológica do animal tenham forte influência sobre o metabolismo proteico, afetando não só a composição do ganho, mas, também, o balanço de compostos nitrogenados, não há até o momento recomendações de ajuste das exigências líquidas para manutenção e de sua respectiva eficiência de utilização em função do peso do animal.

O termo turnover proteico é usado para quantificar os processos de síntese e de degradação de proteína num determinado período de tempo. Nos estados anabólicos (crescimento) a síntese proteica é superior, ao contrário dos estados catabólicos (restrição de nutrientes), em que a degradação é superior à síntese proteica.

No organismo, não há reserva de proteína ou de aminoácidos livres, sendo que qualquer quantidade acima das necessidades para a síntese proteica celular e de compostos não proteicos nitrogenados é metabolizada. No entanto, na célula, existe um pool metabólico de aminoácidos em estado de equilíbrio dinâmico que pode ser utilizado quando for necessário.

O contínuo estado de síntese e degradação de proteínas, turnover proteico, é necessário para manter esse pool metabólico e a capacidade de satisfazer a demanda de aminoácidos nas várias células e tecidos do organismo, quando essas são estimuladas a sintetizar novas proteínas para uma determinada função. Além disso, os aminoácidos — que são os constituintes das proteínas — podem, isoladamente, atuar como precursores de ácidos nucleicos, hormônios e outras moléculas de importância fisiológica. No entanto, é necessário salientar que a função principal dos aminoácidos diz respeito ao mecanismo de síntese proteica.

Os aminoácidos liberados em excesso oriundos da proteólise tecidual intensa são reutilizados e têm numerosos destinos. Além da síntese proteica já citada, que é a prioridade do organismo, a cadeia carbônica pode ser utilizada como fonte de energia ou convertida em glicose (gliconeogênese). Por outro lado, o grupo amino, que é tóxico para o organismo, é convertido em ureia no fígado e, posteriormente, eliminado na urina. Na deficiência proteica, em casos extremos de desnutrição proteica ou em estados catabólicos, o organismo recorre a mecanismos adaptativos, os quais são regulados pela presença de nutrientes ou de hormônios — tanto anabólicos quanto catabólicos —, com a finalidade de preservar a massa proteica. A necessidade de ingestão de proteínas e de aminoácidos depende das condições fisiológicas dos indivíduos.

Uma técnica amplamente utilizada durante os últimos anos para a avaliação do catabolismo de proteínas miofibrilares é a excreção de 3-metil-histidina na urina. O aminoácido 3-metil-histidina é um constituinte normal das cadeias de actina e miosina e é formado por doação pós-translacionais de um grupo metil da metionina a histidina. Depois de degradação dessas proteínas, a histidina metilada liberada não é reutilizada, mas quantitativamente excretada na urina dos animais (D'MELLO, 2003). Assim, sua excreção foi sugerida como um índice *in vivo* válido da degradação proteica muscular. Mas, a validade desse método já foi questionada, uma vez que foi sugerido que os outros tecidos, além do músculo esquelético, podem contribuir com uma parcela considerável de 3-metil-histidina urinária. Esse método tem sido utilizado no homem, ratos, coelhos e foi validado para bovinos (McCARTHY; BERGEN; HAWKINS, 1983). No entanto, tem sido relatado como um índice inválido de degradação da proteína muscular em ovinos e suínos, pois apenas uma pequena parcela da 3MH seria excretada na urina, nesse grupo de animais, pois uma quantidade ficaria retida na forma de um dipeptídeo, a ofidina (GOPINATH; KITTS, 1984).

O músculo esquelético possui três grupos de proteínas, classificadas de acordo com a sua solubilidade e localização no tecido muscular: proteínas sarcoplasmáticas (30 a 35% da proteína muscular), proteínas miofibrilares (55 a 60% da proteína muscular), proteínas do estroma (10 a 15% da proteína muscular). As proteínas miofibrilares, além de serem a maior classe de proteínas do músculo esquelético, são responsáveis pelas propriedades contráteis do mesmo, e, portanto, estudos sobre o crescimento e turnover muscular se concentram sobre as proteínas miofibrilares.

Nos bovinos, de acordo com McCarthy, Bergen e Hawkins (1983), mais de 93% do total de 3-metil-histidina é oriundo do músculo esquelético (McCARTHY; BERGEN; HAWKINS, 1983). Assim, com base em evidências disponíveis na literatura, assume-se que, em bovinos, uma parte importante de 3-metil-histidina da urina é derivada do músculo esquelético e essa excreção representa um índice *in vivo* da degradação proteica muscular. A maturidade ou aumento do peso corporal diminui gradativamente a síntese de proteína muscular, alternando a composição corporal, diminuindo a porcentagem de músculo no corpo o que poderia alterar a taxa de turnover e a excreção de compostos nitrogenados por unidade de peso.

Desta forma, no presente trabalho, buscou-se avaliar o efeito do crescimento e terminação do animal sobre o seu metabolismo proteico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de bovinocultura de corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, no período de agosto de 2011 a julho de 2012. Foram utilizados 18 bovinos da raça Nelore, machos, não castrados, com peso vivo médio inicial de 320 kg, na primeira avaliação, 400 kg na segunda e 480 kg na terceira. Os animais foram alojados em baias individuais (6 m²) cobertas, com piso de concreto antiderrapante, providas de comedouros e de bebedouros individuais.

As dietas experimentais foram constituídas de silagem de milho e concentrado à base de fubá de milho, farelo de soja e núcleo mineral nas proporções de 60 e 40%, da MS, e balanceadas para conter 10, 14 ou 18% de proteína bruta (PB). A proporção dos ingredientes na mistura dos concentrados pode ser visualizada na Tabela 1.

Tabela 1 Proporção dos ingredientes nos concentrados, expressos na base da matéria seca (g/kg de MS), em função dos níveis de proteína bruta nas dietas

Ingredientes	PB (g/kg de MS)		
	10	14	18
Fubá de milho	939	810	310
Farelo de soja	58	187	687
Núcleo mineral ¹	3,00	3,00	3,00
Total	1000	1000	1000

¹/Conteúdo por kg do produto: cálcio 240 g, fósforo 174 g, cobalto 100 mg, cobre 1.250 mg, ferro 1.795 mg, flúor (máx.) 1.740 mg, iodo 90 mg, manganês 2.000 mg, zinco 5.270 mg, selênio 15 mg, por quilo do produto puro em elementos ativos.

Os animais foram alocados em seis quadrados latinos 3 x 3 em cada fase (aos 320, 400 e 480 kg), sendo três tratamentos (níveis de PB), três períodos experimentais e três animais (repetições). Os três tratamentos foram constituídos de níveis de proteína bruta dietética (10, 14 e 18% da MS) (Tabela 1). Cada período experimental teve duração de 14 dias, sendo nove para adaptação às dietas e cinco dias para coleta total de fezes e urina. Para avaliar o efeito do estágio fisiológico sobre o metabolismo nitrogenado, cada ensaio foi realizado em três diferentes faixas de peso (320, 400 e 480 kg).

Entre um para cada uma das três faixas de peso, os animais receberam uma dieta à base de capim-elefante e mistura mineral até atingirem o peso médio para entrada no ensaio referente a próxima faixa de peso. Antes de entrarem no próximo ensaio experimental, todos os animais passaram por um período de adaptação de 14 dias, recebendo a dieta com 14 % de proteína bruta, para depois serem distribuídos aleatoriamente nos três níveis de proteína do quadrado latino.

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, sempre às 8h e 16h, na forma de dieta completa, permitindo-se sobras de, no máximo 10% do fornecido, com água permanentemente à disposição dos animais. A quantidade da dieta oferecida, e das sobras foi registrada diariamente.

Amostras dos concentrados, da silagem e das sobras, foram coletadas diariamente por animal. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos a -15°C e, posteriormente, submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, por 72 horas, e processadas em moinho com peneira de 1 mm. Após a pré-secagem das amostras diárias, foi efetuada uma amostra composta com base no peso seco para cada animal em cada período e, posteriormente, analisadas.

A coleta total de fezes e urina foi conduzida, em cada animal, durante cinco dias consecutivos, em cada um dos períodos experimentais. As fezes foram recolhidas diretamente do piso, enquanto a urina foi coletada utilizando-se

funis coletores conectados à mangueira de polietileno, pela qual a urina foi conduzida até um recipiente de plástico com tampa contendo 200 mL de H₂SO₄ a 20%. Ao término do período de 24 horas de cada dia de coleta, a urina foi mensurada, homogeneizada, amostrada e armazenada em frascos plásticos a -15°C. Ao final do período de coleta, o total de urina foi mensurado, homogeneizado e obtido uma alíquota de 50 ml. Esta foi conduzida ao Laboratório para a avaliação dos teores de nitrogênio total (método de Kjeldahl; INCT – CA N-001/1) Para determinação do turnover proteico, foi avaliada a excreção urinária de 3-metil-histidina, por meio da cromatografia líquida de alta performance (HPLC), baseada no método descrito por Scott et al. (1993). Para tanto, alíquotas de 150 mL de urina foram desproteinizadas pela adição de 100mL de HClO₄ a 3M e subsequente centrifugação a 3, 000× g por 15 min. Uma alíquota de 200 mL do sobrenadante foi misturada com 400 mL de água destilada e o pH da solução ajustado a 9,0 pela adição de 115mL de NaOH a 1,5M e 400mL de Na₂B₄O₇ a 0,2M. Em seguida, foram adicionados 250mL de solução de fluorescamina e 400 mL de HCl a 2M e incubadas a 90°C por 45 min.

Posteriormente, procedeu-se à extração em éter dietílico, sendo a amostra injetada no cromatógrafo de alta performance, utilizando como solventes solução de cetil-nitrimetil-amônio a 2,5 mM com acetato de sódio a 0,1M e solução de brometo de cetil-nitrimetil-amônio a 2,5 mM com 90% de acetonitrila, ambas ajustadas para pH de 6,5. As análises de 3 metil histidina foram conduzidas apenas nas amostras referentes às faixas de peso de 320 e 480 kg.

As fezes foram quantificadas, amostradas e secas em estufa com ventilação forçada para posterior formação de uma amostra composta por animal por período com base no peso seco excretado. As amostras dos alimentos, sobras e fezes foram determinadas quanto aos teores de MS (INCT – CA G-003/1),

matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE) (INCT – CA G-004/1) e proteína bruta (PB) (INCT – CA N-001/1). Para análise da concentração de fibra em detergente neutro (FDN) (INCT – CA F-002/1), utilizando-se α -amilase termoestável, omitindo-se o uso de sulfito de sódio, corrigindo para o resíduo de cinzas (INCT – CA M-002/1) e para o resíduo decompostos nitrogenados (INCT – CA N- 004/1). Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF; g/kg MS) foram obtidos segundo Detmann e Valadares Filho (2010): $CNF = MO - (PB + EE + FDN_{cp})$, em que: FDN_{cp} = teor de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (g/kg MS).

Os demais termos foram previamente definidos (g/kg MS). Nas amostras de urina, foi determinado o teor de N (INCT – CA N-001/1), utilizando-se 2 mL de amostra.

As perdas endógenas totais foram estimadas pela regressão entre o balanço de N (Y) e a ingestão de N (X), expressas em g/kg PV; considerando o intercepto dessa regressão como as exigências líquidas de proteína para manutenção. O coeficiente de inclinação da regressão do N absorvido (Y, N ingerido menos o N fecal) na ingestão de N (X), expressas em g/kg PV; foi utilizado para a determinação da eficiência de utilização da proteína metabolizável para manutenção (AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL, 1993).

A exigência de proteína metabolizável para manutenção foi determinada pela divisão da proteína líquida para manutenção pela eficiência de utilização da proteína metabolizável (AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL, 1993). O experimento foi analisado segundo o procedimento GLM, considerando o efeito fixo das três faixas de peso (320, 400 ou 480 kg), das três dietas (10, 14 ou 18% de PB) e dos animais aninhados dentro de cada período experimental.

Para efeito de interpretação dos efeitos de tratamentos, empregaram-se os níveis médios de PB nas dietas consumidas (10; 14 e 18% PB). Os resultados foram avaliados por intermédio do programa SAS 9.1, adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

As regressões para a determinação das exigências de proteína para manutenção foram efetuadas, utilizando-se o procedimento PROC GLM (SAS 9.1), de acordo com o seguinte modelo estatístico: $Y_{ijk} = m + T_i + A_j + B_k + E_{ijk}$ Onde Y_{ijk} é o valor observado; m é a média geral; T_i é o efeito do tratamento i (nível de proteína dietética); A_j e o efeito aleatório do animal j ; B_k e o efeito aleatório do período experimental k e E_{ijk} e o erro aleatório.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram influenciados o consumo de nitrogênio, assim como as excreções fecais e urinárias pelas dietas (Tabela 2).

Tabela 2 Consumo, excreção fecal, excreção urinária, absorção e balanço de N, em g/kg PV, de novilhos Nelore submetidos a diferentes níveis de PB na dieta em diferentes faixas de peso

Dieta, %PB	Faixa de peso, kg			EPM	Valor P		
	320	400	480		Dieta	Peso	D x P
	CN, g/kg PV						
10	0,303	0,276	0,300				
14	0,478	0,451	0,485	0,01199	<0,0001	0,0408	0,7249
18	0,612	0,596	0,598				
	NF, g/kg PV						
10	0,172	0,134	0,165				
14	0,200	0,161	0,200	0,1017	0,0021	0,0001	0,7552
18	0,190	0,165	0,175				
	NU, g/kg PV						
10	0,093	0,088	0,068				
14	0,141	0,164	0,114	0,277	<0,0001	0,0002	0,0002
18	0,178	0,277	0,235				
	NA, g/kg PV						
10	0,145	0,137	0,127				
14	0,293	0,297	0,292	0,01835	<0,0001	0,0975	0,3744
18	0,424	0,431	0,400				

“Tabela 2, conclusão”

Dieta, %PB	Faixa de peso, kg			EPM	Valor P		
	320	400	480		Dieta	Peso	D x P
	BN, g/kg PV						
10	0,050	0,044	0,053				
14	0,163	0,117	0,169	0,2031	<0,0001	0,0229	0,0164
18	0,258	0,162	0,152				

CN = consumo de N, NF= excreção fecal de N, NU = excreção urinária de N, NA = N absorvido, BN= balaço de N.

Quando expresso em porcentagem do peso vivo, houve interação entre a dieta e a faixa de peso avaliada para o balanço de N e a excreção urinária de N.

Nas dietas com 18% de PB, houve redução ($P < 0,05$) do balanço de N para os animais de maior peso (480 kg) em relação à faixa de menor peso (320 kg).

Essa redução na quantidade de N retido, ou balanço de N, pode ser decorrente da redução da expressão gênica de enzimas do metabolismo proteico com o avanço do estágio fisiológico dos animais. Tanto a síntese quanto a degradação de proteínas são altas, durante a fase inicial da vida de um animal, o que contribui para a adaptação e remodelação dos tecidos que ocorre durante essa fase da vida, contudo há uma maior síntese em relação à degradação. No diafragma de um hamster com 30 dias de idade, por exemplo, há uma síntese proteica 5 vezes maior que em um animal de 100 dias de idade e 7,5 vezes em relação a outro animal de 230 dias. A degradação, no entanto é apenas 2,5 vezes maior (GOLDSPINK; GOLDSPINK, 1977). Em aves de corte a taxa fracional de síntese do músculo do peito e músculo da perna diminuiu rapidamente com o aumento idade (MORGAN; CALKINS, 1989).

Quanto ao balanço de N em relação aos níveis de PB na dieta, Veras, Valadares Filho e Valadares (2007) encontraram resultados semelhantes. Valadares (1997), avaliando quatro níveis de proteína (7,0; 9,5; 12,0 e 14,5),

obteve menor balanço de N para o teor de 7,0% de PB em relação aos demais, que não diferiram entre si.

O N fecal também foi influenciado pelo peso dos animais, sendo inferior na faixa de maior peso, o que pode ser decorrência de uma diminuição das perdas endógenas fecais com o avanço da maturidade e pode estar relacionada a menor proporção do TGI em relação ao peso corporal em animais mais maduros, comparado a animais de menor peso.

A taxa de turnover proteico pode ser reduzida ao longo da vida do animal. O turnover difere entre os tecidos: o músculo esquelético que responde por, aproximadamente, 50% do conteúdo de proteína corporal e responsável, apenas, por cerca de 25% do turnover, enquanto o fígado e o intestino que respondem por menos de 10% do conteúdo proteico do organismo, contribuem com 50% do turnover (LAJOLO; TIRAPEGUI, 1998). Com o avançar da maturidade, a proporção de músculos na massa corpórea diminui, gradativamente, em virtude de uma menor síntese proteica e aumento na síntese de gordura. Esse decréscimo da síntese proteica poderia estar associado a uma redução na perda de compostos nitrogenados.

A excreção urinária de 3 metil-histidina (3MH), em mg 3MH/ kg peso corporal, foi menor nos animais com peso médio de 480 kg em relação aos de 320 kg (Tabela 3). Essa redução indica diminuição na taxa de degradação muscular com o aumento do peso de bovinos e pode impactar, diretamente, as perdas endógenas nitrogenadas. A excreção de 3MH foi, positivamente, correlacionada com o teor de PB dietético. Como observado na Tabela 2, o aumento do teor proteico das dietas elevou a quantidade de N retido no corpo (Balanço de N), o que deve estar relacionado a um aumento na taxa de síntese proteica, decorrente da maior disponibilidade de aminoácido nas dietas com maior teor proteico. Segundo Yambayamba, Price e Foxcroft (1996), o aumento na síntese proteica é acompanhado de uma maior degradação proteica, de forma

a disponibilizar aminoácidos para o processo de transcrição, entretanto, em balanço de N positivo, o aumento na síntese é maior do que o aumento observado na degradação proteica, resultando em retenção de N pelo corpo.

Reeds et al. (1980), investigando a relação entre a deposição e síntese de proteínas sugeriram que, quando ambas as variáveis são alteradas pela variação na ingestão diária de alimentos em um peso corporal fixo, cada unidade de aumento na deposição de proteína está associada com um aumento de 2,17, na síntese de proteína e, portanto, presumivelmente, um aumento de 1,17 na degradação de proteína corporal.

Esses dados corroboram essa afirmação, pois o teor proteico influenciou positivamente a retenção (Balanço de N) e a degradação proteica (excreção de 3MH) em todas as dietas.

Tabela 3 Excreção urinária de 3 metil-histidina (3MH) em bovinos alimentados com diferentes níveis de PB em diferentes faixas de peso

Dieta, %PB	Faixa de Peso		EPM	Dieta	Valor P	
	320	480			Peso	DxP
	3MH, mg/PV/dia					
10	0,3025	0,167				
14	0,369	0,250	0,05	0,0042	0,0137	0,0636
18	0,391	0,408				

Os animais apresentaram uma diminuição de retenção de N em relação aos seus pesos corporais, em função tanto do N ingerido quanto do absorvido (Figuras 1 e 2).

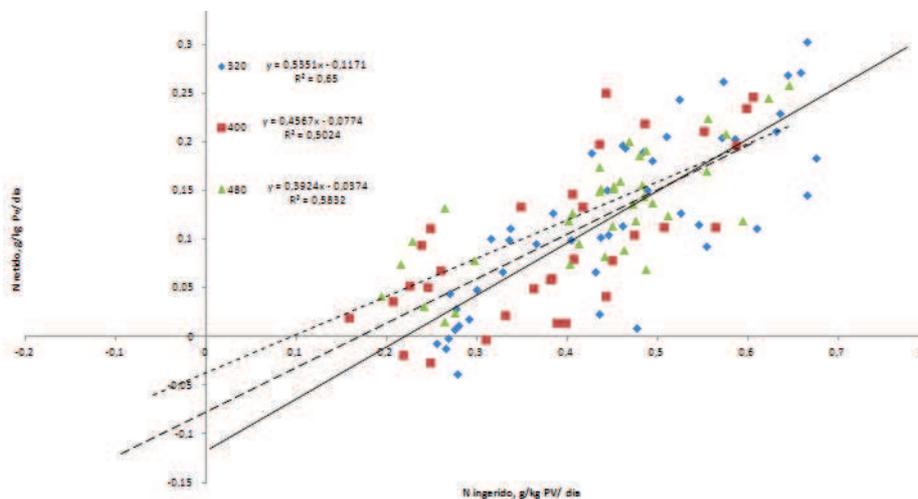


Figura 1 Regressão do N retido em função do N ingerido, em g/kg PB/dia, em bovinos alimentados com diferentes teores proteicos em diferentes faixas de peso corporal

Foi observado que o intercepto da regressão do N retido em função do N ingerido, em g/kg PB/dia, diminuiu com o aumento da faixa de peso dos animais.

Esse intercepto representa a perda de N endógeno total, ou a exigência líquida de proteína para manutenção. As perdas foram de 0,117, 0,077 e 0,037 g N por kg de peso corporal para as faixas de 320, 400 e 480 kg, respectivamente (Figura 3). Novamente, as perdas nitrogenadas endógenas reduziram com o avanço da maturidade fisiológica.

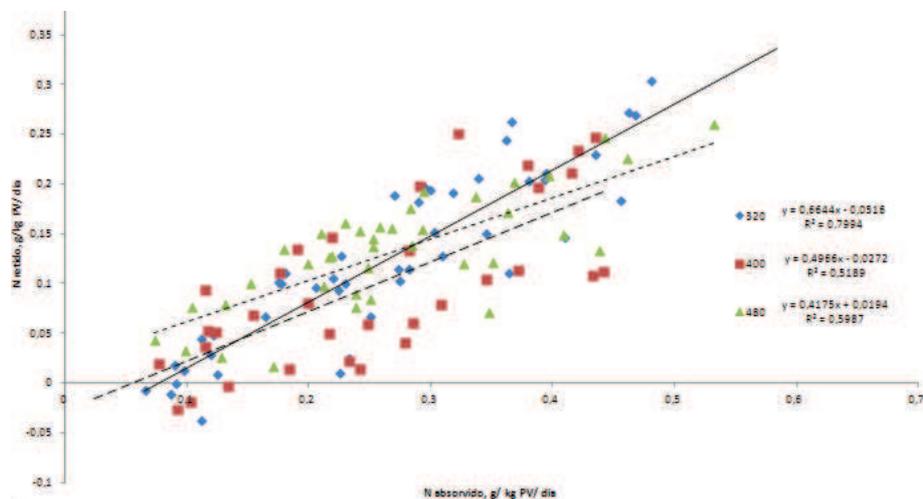


Figura 2 Regressão do N retido em função do N absorvido, em g/kg PB/dia, em bovinos alimentados com diferentes teores proteicos em diferentes faixas de peso corporal

Além da menor perda de N endógeno, a eficiência de utilização do nitrogênio absorvido (k) foi reduzida com o aumento de peso dos animais, sendo esta de 0,664; 0,497 e 0,417 para as faixas de peso de 320, 400 e 480 kg, respectivamente (Figura 3). Essa menor eficiência com o aumento de peso de bovinos foi descrita pelo NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001), que considera eficiência constante de 49,2% para animais com peso equivalente superior a 300 kg e decrescente com o aumento do peso corporal para animais com peso inferior a 300 kg, segundo a equação: $k = 0,834 - (0,00114 \times \text{PCVZ})$. No presente estudo (Figura 3), obtivemos $k = 1,14 - (0,0015 \times \text{PV})$.

A partir do conhecimento da eficiência de utilização da proteína, podem-se converter as exigências líquidas em exigências de proteína metabolizável, o que está representado na Figura 3.

Nesse experimento, foi encontrado que as exigências de proteína metabolizável de manutenção (PMm), decresce ($P < 0,05$), a medida que o peso

corporal aumenta, de acordo com a seguinte equação PMm (g PB/PV/dia) = $2,2441 - 0,0034 \times PV$ (kg).

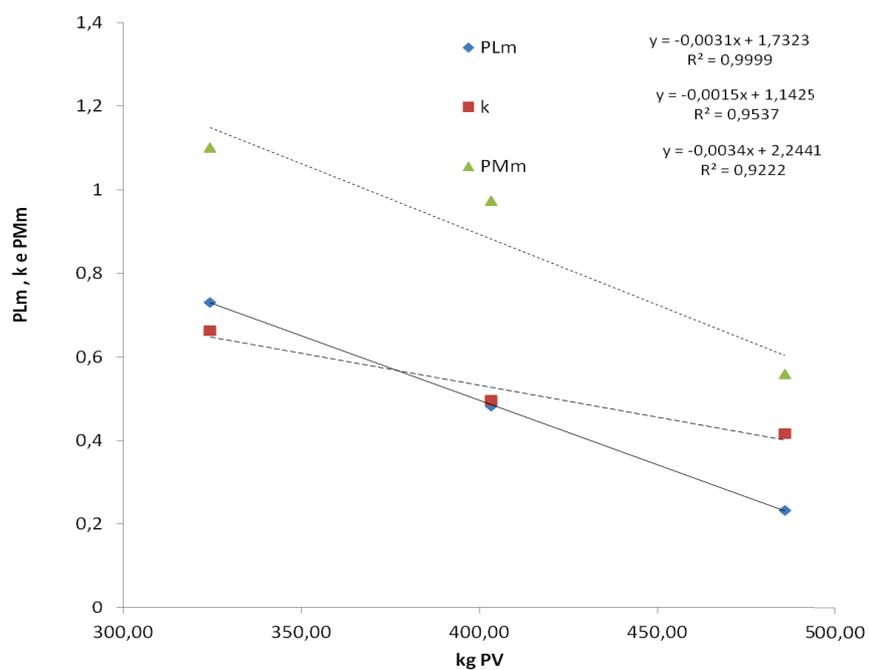


Figura 3 Exigências de proteína líquida (PLm) e metabolizável (PMm), para manutenção e eficiência de utilização da proteína metabolizável (k) em função do peso corporal de bovinos (kg PV)

Essa diminuição nas exigências de PMm pode ser explicada pelo fato de que, com o avanço da idade/peso, os animais depositam cada vez menos tecido magro, e cada vez mais gordura na carcaça, o que reduz a síntese e degradação proteica e, conseqüentemente, a perda de N endógeno.

Ainda há um numero muito reduzido de trabalhos nacionais, envolvendo a mensuração das exigências de proteína para manutenção. Ezequiel (1987) obteve exigências de proteína metabolizável para manutenção de 1,72 e 4,28 g/kg PV^{0,75}/dia para novilhos Nelore e Holandês, respectivamente, enquanto Valadares

(1997), utilizando outra metodologia para estimar tanto as perdas endógenas fecais, por intermédio da regressão entre a ingestão de nitrogênio(N) digestível (Y) e a ingestão de N (X), quanto as perdas urinárias endógenas, pela regressão entre a excreção de N total urinário (Y) e a ingestão de N (X), obteve exigências de proteína metabolizável para manutenção de 4,13 g/kgPV^{0,75}/dia. Nota-se, portanto, que os valores encontrados são bastante variáveis e diferentes do sugerido pelo NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2000) - 3,8 g/kg PV^{0,75}/dia, principalmente em relação a animais zebuínos.

No presente estudo, os valores em g/kg PV^{0,75} para as faixas de peso de 320, 400 e 480 kg foram, respectivamente, de 2,95; 1,85 e 1,08 para PLm, 0,664; 0,497 e 0,417 para k e 4,44; 3,73 e 2,60 para PMm (Figura 4).

O peso corporal elevado a 0,75 poderia corrigir para essa menor perda endógena de animais mais pesados, entretanto esse coeficiente é oriundo de um ajuste para tamanho metabólico em função da produção de calor em jejum, ou seja, é válido para corrigir a menor perda de calor por unidade de massa e não foi desenvolvido especificamente para o metabolismo proteico.

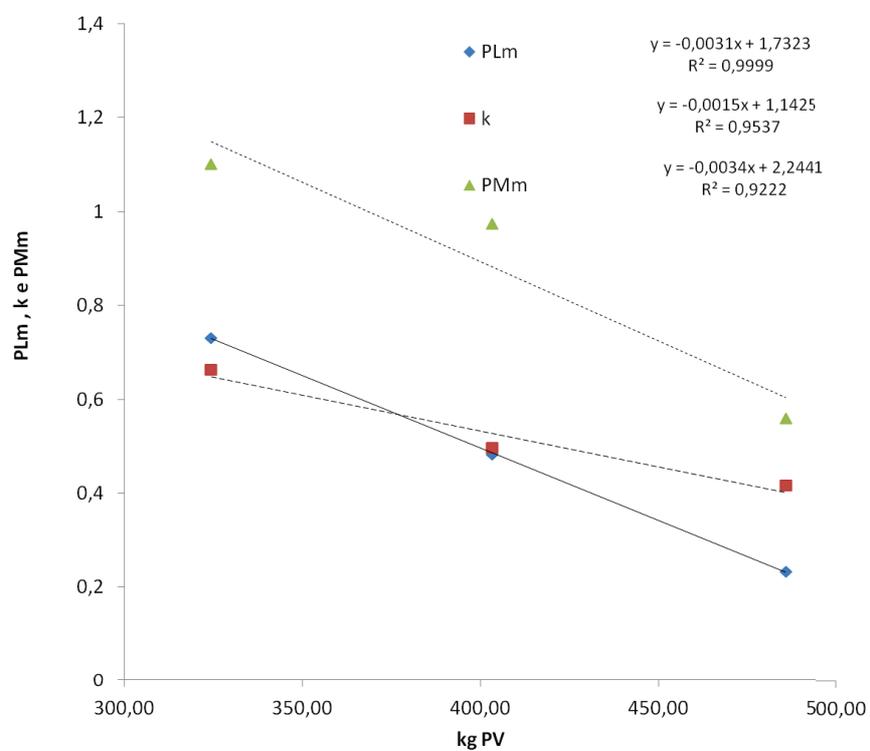


Figura 4 Exigências de proteína líquida (PLm) e metabolizável (PMm) para manutenção e eficiência de utilização da proteína metabolizável (k) em função do peso corporal de bovinos ($PV^{0,75}$).

O ajuste dos modelos matemáticos foram superiores quando esse foi expresso em relação ao peso corporal, e, portanto, optou-se pela unidade g/kg de peso corporal para expressarmos os resultados.

5 CONCLUSÕES

As perdas endógenas de nitrogênio, o turnover e a degradação proteica, as exigências líquidas e metabolizáveis de proteína para manutenção e a eficiência de utilização da proteína metabolizável de proteína decrescem, em g/ kg de PV, a medida que ocorre o aumento do peso corporal.

As exigências de proteína metabolizável de bovinos não castrados Nelore podem ser obtidas por: $PMm \text{ (g /PV/dia)} = 2,2441 - 0,0034 \times PV \text{ (kg)}$. O aumento nos níveis de proteína dietética eleva o balanço de nitrogênio e a excreção urinária de 3 metil histidina.

REFERÊNCIAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. **Energy and protein requirement of ruminants**. Wallingford: CAB International, 1993.

AINSLIE, S. J. et al. Predicting amino acid adequacy of diets fed to Holstein steers. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 6, p. 1312-1319, May 1993.

ARAÚJO, G. G. L. et al. Composição corporal e exigências líquidas de energia e proteína de bezerros alimentados com dietas contendo diferentes níveis de volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 1013-1022, maio 1998.

BACKES, A. A. et al. Composição corporal e exigências líquidas de energia e proteína para ganho de peso de novilhos Santa Gertrudis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 2307-2313, mar. 2002.

BOIN, C. Alguns dados sobre exigências de energia e de proteína de zebuínos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1., 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 1995. p. 457-466.

BULLE, M. L. M. et al. Exigências líquidas de energia e proteína de tourinhos de dois grupos genéticos alimentados com dietas de alto teor de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 436-443, 2002. Suplemento.

CARVALHO, P. A. et al. Composição corporal e exigências líquidas de proteína e energia para ganho de peso de bezerros machos de origem leiteira do nascimento aos 110 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1484-1491, jun. 2003.

CAVALCANTE, M. A. B. **Níveis de proteína bruta em dietas de bovinos de corte: consumo, digestibilidade, produção microbiana, parâmetros ruminais e desempenho produtivo**. 2004. 58 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

D'MELLO, J. P. F. Amino acids as multifunctional molecules. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.). **Animal nutrition**. 2nd. ed. Wallingford: CAB International, 2003. p. 1-14

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 4, p. 980-984, Aug. 2010.

ESTRADA, L. H. C. et al. Exigências nutricionais de bovinos não-castrados em confinamento. 1. Conteúdo corporal e exigências líquidas de proteína e energia para ganho de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 575-583, mar. 1997.

EZEQUIEL, J. M. B. **Exigências de proteína e minerais de bovídeos: frações endógenas**. 1987. 131p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Viçosa, 1987.

FERREIRA, M. A. et al. Composição corporal e exigências líquidas de proteína e energia para ganho de peso de bovinos F1 Simental x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 352-360, fev. 1999.

FONTES, C. A. A. Composição corporal, exigências líquidas de nutrientes para ganho de peso e desempenho produtivo de animais zebuínos e mestiços europeu-zebu. Resultados experimentais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1., 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 1995. p. 419-455.

FREITAS, J. A. **Composição corporal e exigência de energia e proteína de bovinos (zebuínos e mestiços) e bubalinos não castrados, em confinamento**. 1995. 132 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

GOLDSPINK, D. F.; GOLDSPINK, G. Age-related changes in protein turnover and ribonucleic acid of the diaphragm muscle of normal and dystrophic hamsters. **Biochemical Journal**, London, v. 162, n. 1, p. 191-194, Jan. 1977.

GONÇALVES, L. C. et al. Exigências de proteína para novilhos de cinco grupos genéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 20, n. 5, p. 430-438, maio 1991a.

GOPINATH, R.; KITTS, W. D. Growth, N-Methylhistidine excretion and muscle protein degradation in growing beef steers. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 59, n. 5, p. 1262-1269, Nov. 1984.

HAMM, L. V. Defendant and respondent. **Justia us Law**, Mountain View, Sept. 1961.

HARRIS, C. I.; MILNE, G. The urinary excretion of N-methyl histidine by cattle: validation as an Index of muscle protein breakdown. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 45, p. 411-422, 1981.

IINSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE.
Alimentation des bovines, ovins, et caprins. Paris: INRA, 1988.

LADEIRA, M. M. **Consumo digestibilidade aparentes totais e parciais de dietas contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos Nelore**. 1998. 69 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

LAJOLO, F. M.; TIRAPEGUI, J. Proteínas e aminoácidos. In: OLIVEIRA, J. E. D.; MARCHINI, J. S. (Ed.). **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 1998. p. 41-69.

LANA, R. P. et al. Composição corporal e do ganho de peso e exigências de energia, proteína e macroelementos minerais (Ca, P, Mg, Na e K), de novilhos de cinco grupos raciais. 2. exigências de energia e proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 21, n. 3, p. 528-537, mar. 1992.

LANA, R. P. **Nutrição e alimentação animal (mitos e realidades)**. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 2005.

LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 4, p. 1216-1231, Apr. 1998.

McCARTHY, F. D.; BERGEN, W. G.; HAWKINS, D. R. Muscle protein turnover in cattle of differing genetic backgrounds as measured by urinary N tau-methylhistidine excretion. **The Journal of Nutrition**, Springfield, v. 113, n. 12, p. 2455-2463, Dec. 1983.

MORGAN, J. B.; JONES, S. J.; CALKINS, C. R. Muscle protein turnover and tenderness in broiler chickens fed cimaterol. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, n. 10, p. 2646-2654, Oct. 1989.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beefcattle**. 7. ed. Washington: National Academy Press, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairycattle**. 7. ed. Washington: National Academic Press, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Ruminant nitrogen usage**. Washington: National Academy of Sciences, 1985.

OLDHAM, J. D. Efficiencies of amino acid utilization. In: JARRIGE, R.; ALDERMAN, G. (Ed). Feed evaluation and protein requirement systems for ruminants. Brussels: Commission of the European Communities, 1987. p. 171-186.

PAULINO, M. F. et al. Composição corporal e exigências de energia e proteína para ganho de peso de bovinos de quatro raças zebuínas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 627-633, mar. 1999.

PAULINO, P. V. R. et al. Eficiência de uso da energia metabolizável para manutenção e ganho de peso e exigências energéticas de novilhos anelados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Infovia, 2003. 1 CD-ROM.

PIRES, K. C. et al. Exigências nutricionais de bovinos de corte em acabamento. I - composição corporal e exigências de proteína para ganho de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 22, n. 1, p. 110-120, jan. 1993.

REEDS, P. J. et al. Protein turnover in growing pigs. Effects of age and food intake. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.43, n. 3, p. 445-455, May 1980.

RENNO, L. N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de ureia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de ureia ou dois níveis de proteína**. 2003. 252 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

ROCHA, E. O.; FONTES, C. A. A. Composição corporal, composição do ganho de peso e exigências nutricionais de novilhos de origem leiteira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 159-168, 1999.

SAINZ, R. D. et al. Melhoramento genético da carcaça em gado zebuino. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE CRIADORES EPESQUISADORES, 12., 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: ANCP, 2003. p. 1-12.

SCOTT, S. L. et al. The effect of a cold environment on protein and energy metabolism in calves. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 69, n. 1, p. 127-137, Jan. 1993.

SIGNORETTI, R. D. et al. Composição corporal e exigências líquidas de energia e proteína de bezerros da raça Holandesa alimentados com dietas contendo diferentes níveis de volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 195-204, jan. 1999.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002.

SILVA, J. F. C. da; LEAO, M. I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livrocetes, 1979.

SOARES, J. E. **Composição corporal e exigências de macroelementos minerais (Ca, P, Mg, K e Na) para ganho de peso em bovinos (zebuínos e mestiços) e bubalinos**. 1994. 77 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

STATISTICAL ANALYSES SYSTEM. **SAS/STAT: user's guide: version 9.1**. Cary: SAS Institute, 2003.

TIRAPEGUI J. **Nutrição: fundamentos e aspectos atuais**. São Paulo: Atheneu, 2000.

TIRAPEGUI, J. **Nutrição: fundamentos e aspectos atuais**. São Paulo: Atheneu, 2000.

VALADARES FILHO, S. C. et al. **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados**: BRCORTE. Viçosa: Editora da UFV, 2010.

VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, P. V. R.; SAINZ, R. D. Desafios metodológicos para determinação das exigências nutricionais de bovinos de corte no Brasil. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005. p. 261-287.

VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. Recentes avanços em proteína na nutrição de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, SINLEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. p. 228-243.

VALADARES, R. F. D. et al. Níveis de proteína bruta em dietas de bovinos. 2. Consumo, digestibilidade e balanço de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 1259-1263, 1997.

VALADARES, R. F. D. **Níveis de proteína em dietas de bovinos:** consumo, digestibilidade, eficiência microbiana, amônia ruminal, ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. 1997. 103 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. London: Comstock Publishing Associates, 1994.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell University, 1985.

VELOSO, C. M. et al. Composição corporal e exigências energéticas e protéicas de bovinos F1 Limousin x Nelore, não-castrados, alimentados com rações contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1273-1285, mar. 2002.

VÉRAS, A. S. C. et al. Composição corporal e requisitos energéticos e protéicos de bovinos Nelore, não-castrados, alimentados com rações contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 8, p. 2379-2389, ago. 2000.

VERAS, R. M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. D. Balanço de compostos nitrogenados e estimativa das exigências de proteína de manutenção de bovinos Nelore de três condições sexuais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 1212-1217, 2007.

YAMBAYAMBA, E. S.; PRICE, M. A.; FOXCROFT, G. R. Hormonal status, metabolic changes, and resting metabolic rate in beef heifers undergoing compensatory growth. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 1, p. 57-69, 1996.