



**YOLANDA FERNANDA ANTÓNIO JOEL MAPANZENE**

**LEVANTAMENTO SOBRE A NUTRIÇÃO PROTEICA DE  
VACAS EM LACTAÇÃO COM NUTRICIONISTAS  
BRASILEIROS**

**LAVRAS-MG  
2025**

**YOLANDA FERNANDA ANTÓNIO JOEL MAPANZENE**

**LEVANTAMENTO SOBRE A NUTRIÇÃO PROTEICA DE VACAS EM LACTAÇÃO  
COM NUTRICIONISTAS BRASILEIROS**

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

**Profa. Dra. Marina de Arruda Camargo Danes**

**Orientadora**

**LAVRAS–MG  
2025**

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo(a) autor(a) através do Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA.**

Mapanzene, Yolanda Fernanda António Joel.

Levantamento sobre nutrição proteica de vacas em lactação com nutricionistas brasileiros / Yolanda Fernanda António Joel Mapanzene. 2025.

86 p. : il.

Orientadora: Marina de Arruda Camargo Danes

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.  
Bibliografia.

1. Nutrição proteica. 2. Vacas em lactação. 3. Softwares. 4. Métricas de formulação. 5. Desafios na formulação. I. Danes, Marina de Arruda Camargo. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

**YOLANDA FERNANDA ANTÓNIO JOEL MAPANZENE**

**LEVANTAMENTO SOBRE A NUTRIÇÃO PROTEICA DE VACAS EM LACTAÇÃO  
COM NUTRICIONISTAS BRASILEIROS**

**SURVEY ON PROTEIN NUTRITION OF LACTATING COWS WITH BRAZILIAN  
NUTRITIONISTS**

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

APROVADA em 25 de Fevereiro de 2025

Dra. Polyana Pizzi Rota (UFV)

Dra. Carla Luiza Da Silva Avila (UFLA)

**Profa. Dra. Marina de Arruda Camargo Danes**

Orientadora

**LAVRAS-MG  
2025**

Ao meu filho Kawin Anderson que, com seu sorriso e a pureza de seus olhos, ilumina meus dias e me inspira a ser melhor a cada momento, o meu melhor amor.

Aos meus pais António Joel e Lídia Timane, os meus alicerces, pela confiança, incentivo e apoio inabalável.

A minha pequena irmã Jeniffer que tão cedo no assento etéreo subiu, deixando lembranças do amor tão puro que os meus olhos já viram (*in memoriam*)

A minha avó Luísa (*in memoriam*) por ser a base de todo o amor e carinho.

Dedico

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela dádiva da vida e por estar presente em todos os momentos, guiando os meus passos e iluminando o meu caminho. Não consigo imaginar a minha vida sem sua presença e proteção constante.

Aos meus pais, António Joel Mapanzene e Lídia Martins Timane, minha fonte de inspiração, verdadeiros exemplos de luta e dedicação. Sou imensamente grata por todo amor, carinho e ensinamentos, por me mostrarem o caminho certo, incentivarem minha jornada e acima de tudo, por sempre acreditarem no meu potencial.

Ao meu amor incondicional, meu filho, o meu “coração” Kawin Anderson, que me trouxe momentos de felicidade e aconchego nos períodos mais difíceis e desafiadores. Eu amo você para todo sempre, o amor verdadeiro vence todas as batalhas.

Aos meus irmãos, Cacilda, Maira, Joelma, Dárcia e Albano pela compreensão diante da minha ausência, pelo incentivo constante e pelo voto de confiança nas minhas escolhas, por serem meus melhores amigos e por estarem sempre dispostos a enfrentar qualquer desafio. Um agradecimento especial ao meu irmão Albano, por atender ao meu pedido quando mais precisei.

Ao Milton pela amizade, por ter me incentivado a ir atrás do meu sonho, por me apoiar e por demonstrar preocupação ao longo da minha formação.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Zootecnia e aos Professores, pela grande oportunidade de aprendizado e crescimento.

À professora Marina Danes, pela orientação dedicada, por ter me aceito como orientanda, pelos conhecimentos transmitidos e pelas valiosas experiências de vida compartilhadas comigo que foram além da vida acadêmica.

Ao grupo de pesquisa INPPAR (Inovação, Pesquisa e Pessoas para Alimentação de Ruminantes), aos membros João, Caio, Lázaro, Victor, Rabeche, Gleicielle, Daniela, Maria Clara pelo acolhimento desde o primeiro encontro, pela força, incentivo e pela ajuda indispensável ao longo da minha trajetória no mestrado e na realização dessa pesquisa.

Aos amigos que adquiri ao longo do curso, em especial a Edna, Melissa, Luíza Junqueira, Bruna, Sara, Lopes, Jernimo e Samuel pela amizade e por todo o apoio que deram durante o curso.

Aos demais parentes e amigos pela preocupação e pela torcida ao longo desses anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte concedido ao longo do percurso acadêmico. Código de financiamento 001.

Muito

obrigada!

*“Ainda que a minha mente  
e o meu corpo enfraqueçam  
Deus é a minha força”  
(Salmos 73:26)*

*“A ciência é feita de erros, mas de erros benéficos, já que conduzem pouco a pouco à  
verdade. ”  
(Júlio Verne)*

## RESUMO GERAL

A proteína desempenha um papel multifatorial na nutrição de vacas leiteiras, sendo necessária para atender diversas exigências fisiológicas e metabólicas, de modo a garantir um suprimento adequado para que os animais atinjam melhores respostas na saúde e no seu desempenho. O objetivo deste estudo foi de descrever as práticas adotadas pelos nutricionistas brasileiros relacionadas à nutrição proteica de vacas em lactação. A pesquisa foi conduzida por meio de um questionário online na plataforma *Google Forms*, composto por 36 perguntas direcionadas aos nutricionistas que atuam em fazendas leiteiras no Brasil. Foi feita a estatística descritiva de todas as variáveis numéricas. As perguntas abertas foram resumidas e agrupadas em categorias de acordo com a similaridade do conteúdo. A contabilização das respostas foi feita por meio de uma função “CONT.SE” do Excel. Uma análise de Cluster foi feita de acordo com o nível de produção das vacas, gerando 3 grupos de análises. 56 nutricionistas responderam ao questionário, entre os meses de junho a outubro de 2024, atendiam a um total de 3.008 clientes e uma média de 83 vacas em lactação por fazenda para os 17 estados atendidos do Brasil, com uma produção média de leite de 27,8 kg/vaca/dia. O modelo do NASEM (2021), foi descrito como a principal ferramenta utilizada pelos nutricionistas na formulação de dietas para vacas em lactação. Os nutricionistas relataram vários desafios no balanceamento de proteína nas dietas dos animais, sendo os principais o custo elevado e a falta de diversidade dos ingredientes proteicos. A proteína bruta foi descrita como a métrica principal para o balanceamento de proteínas por 25% dos respondentes. A maioria dos nutricionistas relatou mudanças nas suas recomendações proteicas de vacas em lactação nos últimos três anos. Além disso, o nitrogênio ureico no leite do tanque foi descrito como a principal ferramenta utilizada pelos nutricionistas para avaliar a adequação da proteína nas dietas de vacas em lactação. O farelo de soja convencional foi mencionado por todos os nutricionistas como um ingrediente comumente incluído nas dietas de vacas em lactação e o critério para a escolha de ingredientes é o custo por unidade de proteína brutas. Além disso, muitos nutricionistas têm dúvidas sobre a regulamentação da excreção de nitrogênio pelas fazendas leiteiras nos próximos anos, entretanto, muitos nutricionistas ainda não adotam o modelo de NASEM 2021 para a formulação de dietas e apesar de mudanças nas recomendações proteicas, utilizam métricas ultrapassadas para o balanceamento da proteína.

**Palavras-chave:** balanceamento proteico; NASEM; nutricionistas; questionário online; vaca leiteira.

## GENERAL ABSTRACT

Protein plays a multifactorial role in the nutrition of dairy cows, being necessary to meet various physiological and metabolic demands, ensuring an adequate supply so that animals achieve better health and performance responses. The objective of this study was to describe the practices adopted by Brazilian nutritionists regarding the protein nutrition of lactating cows. The research was conducted through an online questionnaire on the Google Forms platform, consisting of 36 questions directed at nutritionists working on dairy farms in Brazil. Descriptive statistics were performed for all numerical variables. Open-ended questions were summarized and grouped into categories based on content similarity. The responses were counted using the "COUNTIF" function in Excel. A cluster analysis was performed according to the cows' production level, generating three analysis groups. A total of 56 nutritionists responded to the questionnaire between June and October 2024, covering 3,008 clients and an average of 83 lactating cows per farm across 17 Brazilian states, with an average milk production of 27.8 kg/cow/day. The NASEM (2021) model was described as the primary tool used by nutritionists in diet formulation for lactating cows. Nutritionists reported several challenges in balancing protein in animal diets, with the main ones being high costs and the lack of diversity in protein ingredients. Crude protein was described as the primary metric for protein balancing by 25% of respondents. Most nutritionists reported changes in their protein recommendations for lactating cows over the past three years. Additionally, bulk tank milk urea nitrogen was described as the main tool used by nutritionists to assess protein adequacy in dairy cow diets. Conventional soybean meal was mentioned by all nutritionists as a commonly included ingredient in lactating cow diets, and the main criterion for ingredient selection was the cost per unit of crude protein. Furthermore, many nutritionists expressed concerns about the future regulation of nitrogen excretion by dairy farms. However, many nutritionists still do not adopt the NASEM 2021 model for diet formulation, and despite changes in protein recommendations, they continue to use outdated metrics for protein balancing.

**Keywords:** dairy cows; NASEM; nutritionists; protein balancing, survey.

## **Impactos sociais, tecnológicos, econômicos e culturais**

A caracterização dos sistemas de produção leiteira é fundamental diante da crescente demanda por produtos lácteos e das preocupações ambientais associadas à pecuária. Este estudo, teve como objetivo descrever as práticas adotadas pelos nutricionistas que atuam em fazendas leiteiras no Brasil, com foco na nutrição proteica de vacas em lactação. A pesquisa foi realizada em colaboração com a Universidade Federal de Lavras (UFLA) e com os nutricionistas de fazendas leiteiras. No aspecto social, este estudo permitiu identificar os desafios enfrentados pelos nutricionistas no dia a dia no campo, contribuindo para a formulação de possíveis soluções futuras que melhorem a eficiência na formulação das dietas proteicas, otimizando o desempenho produtivo das vacas. Do ponto de vista tecnológico, a pesquisa revelou os principais desafios na nutrição proteica, com a publicação dos dados em uma revista técnica permitirá ampliar o alcance das informações aos nutricionistas e produtores, proporcionando uma visão mais abrangente da realidade das fazendas leiteiras no Brasil. Sob a perspectiva econômica, a pesquisa trouxe *insights* sobre o aproveitamento da proteína nas dietas, possibilitando a redução dos custos das dietas proteicas. Adicionalmente, a pesquisa permitiu identificar as crenças e percepções dos nutricionistas no processo de tomadas de decisão, bem como as estratégias que podem ser implementadas no futuro para aprimorar a nutrição e a eficiência dos sistemas de produção leiteira.

## **Social, Technological, Economic, and Cultural Impacts**

The characterization of dairy production systems is essential given the growing demand for dairy products and the environmental concerns associated with livestock farming. This study aimed to describe the practices adopted by nutritionists working on dairy farms in Brazil, with focus on the protein nutrition of lactating cows. The research was conducted in collaboration with the Federal University of Lavras (UFLA) and dairy farm nutritionists. From a social perspective, the study enabled the identification of challenges faced by nutritionists in their daily work in the field, contributing to the development of potential solutions to improve the efficiency of protein diet formulation and optimize cow's productive performance. From a technological stand point, the research highlighted key challenges in protein nutrition. Additionally, publishing the data in a technical journal will expand the reach of this information among nutritionists and producers, providing a broader view of the reality of dairy farms Brazil. From an economic perspective, the study providing provided insights into optimizing protein feeding strategies. Furthermore, the research identified

nutritionist's beliefs and perceptions regarding the decision-making process as well as strategies that can be implemented in the future to enhance nutrition and the efficiency of dairy production systems.

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AA – Aminoácidos

AAE- Aminoácidos essenciais

AANE- Aminoácidos não essenciais

EUN - Eficiência no uso do nitrogênio

N – Nitrogênio

NNP – Nitrogênio não proteico

PB – Proteína bruta

PDR - Proteína degradada no rúmen

Pmic – Proteína microbiana

PM – Proteína metabolizável

PNDR - Proteína não degradada no rúmen

## **LISTA DE SIGLAS**

MS- Matéria seca

NASEM - National Academies of Sciences, Engineering and Medicine

NRC - National Research Council

## LISTA DE SÍMBOLOS

d- día

dL- decilitro

Kg- quilogramas

Mcal- megacalorias

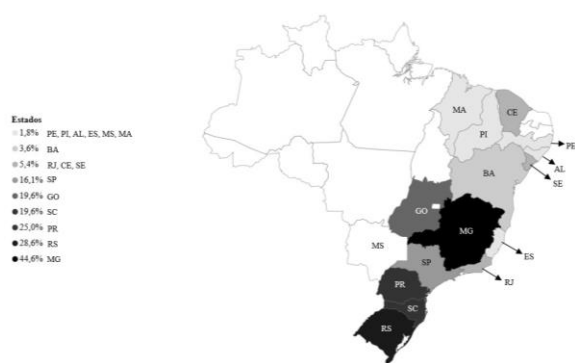
h- hora

## RESUMO INTERPRETATIVO E RESUMO GRÁFICO

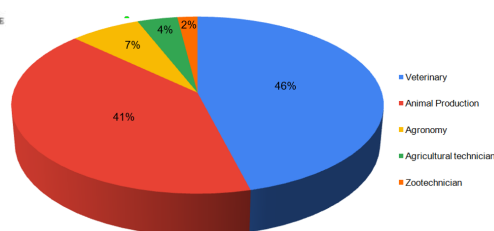
### Levantamento sobre nutrição proteica de vacas em lactação com nutricionistas brasileiros

Elaborado por **Yolanda Fernanda Antônio Joel Mapanzene**, orientada por **Marina de Arruda Camargo Danes**

A proteína desempenha um papel multifatorial na nutrição de vacas leiteiras, sendo necessária para atender diversas exigências fisiológicas e metabólicas, de modo a garantir um suprimento adequado para que os animais atinjam melhores respostas na saúde e no seu desempenho. O objetivo deste estudo foi de descrever as práticas adotadas pelos nutricionistas brasileiros relacionadas à nutrição proteica de vacas em lactação. A pesquisa foi conduzida por meio de um questionário online na plataforma *Google Forms*, composto por 36 perguntas direcionadas aos nutricionistas que atuam em fazendas leiteiras no Brasil. O modelo do NASEM (2021), foi descrito como a principal ferramenta utilizada pelos nutricionistas na formulação de dietas para vacas em lactação. Os nutricionistas relataram vários desafios no balanceamento de proteína nas dietas dos animais, sendo os principais o custo elevado e a falta de diversidade dos ingredientes proteicos. A proteína bruta foi descrita como a métrica principal para o balanceamento de proteínas por 25% dos respondentes. A maioria dos nutricionistas relatou mudanças nas suas recomendações proteicas de vacas em lactação nos últimos três anos. Além disso, o nitrogênio ureico no leite do tanque foi descrito como a principal ferramenta utilizada pelos nutricionistas para avaliar a adequação da proteína nas dietas de vacas em lactação. O farelo de soja convencional foi mencionado por todos os nutricionistas como um ingrediente comumente incluído nas dietas de vacas em lactação e o critério para a escolha de ingredientes é o custo por unidade de proteína brutas. Além disso, muitos nutricionistas têm dúvidas sobre a regulamentação da excreção de nitrogênio pelas fazendas leiteiras nos próximos anos, entretanto, muitos nutricionistas ainda não adotam o modelo de NASEM 2021 para a formulação de dietas e apesar de mudanças nas recomendações proteicas, utilizam métricas ultrapassadas para o balanceamento da proteína.



Localização de fazendas leiteiras no Brasil



Área de formação dos nutricionistas

## SUMÁRIO

Conteúdo	Pág.
SEÇÃO 1	
LISTA DE ABREVIATURAS .....	13
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	21
2.1 Proteína bruta.....	21
2.2 Metabolismo da proteína em ruminantes.....	21
2.3 Eficiência de uso do nitrogênio.....	22
2.4 Impacto ambiental das perdas de Nitrogênio.....	23
2.5 Exigências de proteína para vacas leiteiras: Transição do NRC (2001) ao NASEM .....	25
2.5.1 Proteína degradada no rúmen e proteína não degradada no rúmen .....	25
2.5.2 Aporte de proteína microbiana.....	26
2.5.3 Proteína metabolizável.....	27
2.5.4 Fornecimento de Aminoácidos .....	28
2.5.5 Aminoácidos protegidos da degradação ruminal.....	30
2.6.1 Tipos de perguntas aplicadas a um questionário.....	33
2.6.1.1 Perguntas fechadas.....	33
2.6.1.2 Perguntas abertas .....	33
2.6.2 Pré-testagem do questionário .....	34
2.6.3 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	34
2.6.4 Obrigatoriedade das perguntas.....	35
2.6.5 Análise de dados em pesquisas de levantamento.....	35
2.6.5.1 Estatística descritiva.....	35
2.6.5.2 Análise de correspondência .....	36

2.6.5.2.1 Passo a passo para análise de correspondência.....	37
2.6.5.2.2Análise de agrupamentos .....	37
2.6.5.2.2.1Tipos de análise de agrupamento .....	38
2.6.5.3 Análise de conteúdo.....	38
REFERÊNCIAS.....	40
INTRODUCTION .....	51
MATERIALS AND METHODS.....	52
Protein Ingredient Selection Criteria .....	59
DISCUSSION.....	62
Challenges in Balancing Protein in Diets .....	64
Protein Ingredient Selection Criteria .....	66
CONCLUSION.....	69
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70

## SEÇÃO I

## 1. INTRODUÇÃO

A formulação de dietas para vacas em lactação é um aspeto fundamental para otimizar a produção leiteira, garantir a saúde e melhorar a eficiência do sistema produtivo. É determinada pelas exigências nutricionais do animal, pela composição dos alimentos disponíveis e pela interação entre os nutrientes, sendo essencial a utilização de sistemas de avaliação que interagem esses fatores de forma a garantir um balanceamento adequado, permitindo a otimização da eficiência alimentar e o desempenho produtivo (NRC, 2001; Schwab e Broderick, 2017).

Por outro lado, o progresso na nutrição proteica de vacas leiteiras é primordial diante da necessidade de minimizar o impacto ambiental gerado pela produção (Schwab e Broderick, 2017; Lapierre *et al.*, 2020) e ao mesmo tempo, otimizar a eficiência produtiva e o desempenho econômico (Arriola Apelo; Knapp; Hanigan, 2014). Além disso, o suprimento de proteína merece destaque devido à alta variabilidade da resposta às diferentes fontes de compostos nitrogenados, bem como ao seu elevado custo dentro do sistema de nutrição animal (Arriola Apelo; Knapp; Hanigan, 2014; NASEM, 2021).

Desde 1945, o National Research Council (NRC) vem desenvolvendo diferentes modelos com o objetivo de compreender melhor como a proteína proveniente dos diversos ingredientes é utilizada pelas vacas e de que maneira ela pode ser aplicada nas dietas. No National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM) de 2021, o modelo de proteína avalia a resposta em proteína do leite de acordo com o aporte de aminoácidos específicos e energia, sendo que o balanceamento de aminoácidos se baseia em otimizar a eficiência de utilização de cada um. Estes avanços permitem aumentar a produtividade das vacas, pela otimização da produção de proteína microbiana, melhor balanceamento de aminoácidos essenciais, disponibilidade da proteína metabolizável e redução das perdas de compostos nitrogenados (Danes *et al.*, 2023b).

De acordo com Danes *et al.* (2023<sup>a</sup>), entender o metabolismo do nitrogênio no rúmen e a utilização dos aminoácidos pelos ruminantes, são elementos que devem ser levados em consideração para avançar na nutrição proteica e garantir melhores resultados em termos de produtividade e longevidade do gado, além da melhoria na economia do setor leiteiro e redução do impacto ambiental, pela diminuição da excreção de nitrogênio (Arriola Apelo; Knapp; Hanigan, 2014).

O NASEM (2021) trouxe mudanças significativas no modelo de proteína, introduzindo novas abordagens na nutrição proteica, especialmente em relação a eficiência, interações entre nutrientes e balanceamento de aminoácidos essenciais. No entanto, pouco se sabe da adoção dessas novas diretrizes nas fazendas leiteiras do Brasil, podendo gerar controversas para discussões mais aprofundadas sobre a nutrição proteica, devido ao desconhecimento das metodologias utilizadas pelos nutricionistas no campo.

Ademais, na literatura, há carência de informações sobre como os nutricionistas tomam decisões relacionadas ao balanceamento proteico, quais métricas utilizam e quais desafios enfrentam na formulação de dietas para vacas leiteiras. No Brasil em particular, não há registros de estudos que tenham abordado especificamente práticas adotadas por nutricionistas no balanceamento de proteína na alimentação de vacas em lactação. Dessa forma, esse estudo se propõe a preencher essa lacuna, fornecendo um panorama inédito sobre as estratégias nutricionais empregadas, os principais desafios relatados e o nível de adoção de modelos nutricionais atualizados. Assim, tornou-se imprescindível realizar uma pesquisa que forneça um retrato atual da nutrição proteica de vacas em lactação no Brasil, com vista a identificar possíveis problemas nos processos de tomada de decisão e na formulação de dietas. Deste modo, a questão proposta para este estudo foi: **até que ponto os nutricionistas que atuam em fazendas leiteiras estão adotando as recomendações proteicas na formulação de dietas de vacas em lactação?**

Além disso, embora as novas recomendações do NASEM (2021) sejam embasadas em avanços científicos, sua adoção depende da realidade das fazendas leiteiras e da percepção dos nutricionistas, responsáveis pela formulação de dietas. Identificar deficiências de conhecimento e desafios práticos permitirá o desenvolvimento de estratégias eficazes de realizar extensão, promovendo deste modo, um manejo nutricional mais eficiente e sustentável. Nesse contexto, o objetivo dessa pesquisa foi descrever as práticas adotadas pelos nutricionistas que atuam em fazendas leiteiras em relação a nutrição proteica de vacas em lactação.

Esse objetivo geral se agrega com objetivos específicos de:

- Identificar as principais fontes de proteína utilizadas nas dietas de vacas em lactação pelos nutricionistas brasileiros;
- Relatar as métricas de balanceamento de proteína utilizadas para a formulação de dietas de vacas em lactação;
- Identificar os principais desafios e obstáculos enfrentados pelos nutricionistas para balancear a proteína.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Proteína bruta

A proteína bruta (PB) é um termo que se refere à totalidade de nitrogênio (N) presente em algum alimento, incluindo tanto o N da proteína verdadeira, quanto o nitrogênio não proteico (NNP) (Schwab e Broderick, 2017), sendo mensurada pela fórmula  $N \times 6,25$  (NASEM, 2021). Os ruminantes podem aproveitaras diversas formas de N presentes na dieta, que é degradado em diferentes compostos nitrogenados como aminoácidos (AA), amônia e ureia que serão metabolizados pelo organismo (Aguirre-Villegas *et al.*, 2017).

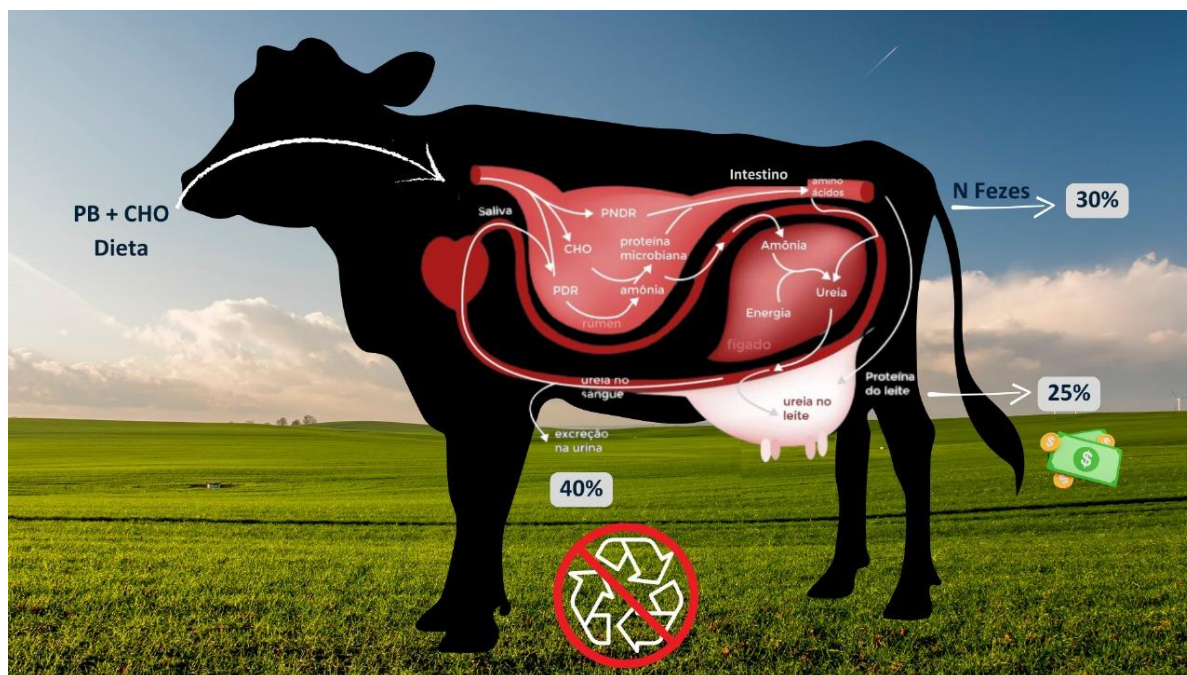
De acordo com Rotta *et al.*, (2016) e NASEM (2021), as principais fontes de proteína na dieta de bovinos incluem a proteína microbiana (Pmic), sintetizada pela microbiota ruminal e a proteína não degradada no rúmen (PNDR). Ambas contribuem para o suprimento de proteína metabolizável que corresponde ao total de AA absorvidos no intestino delgado disponível para utilização pelo animal. Vacas precisam de proteína líquida para a manutenção, crescimento, reprodução e síntese de proteína de leite, sendo grande parte desta proveniente da proteína microbiana (NASEM, 2021).

### 2.2 Metabolismo da proteína em ruminantes

Nos ruminantes, o metabolismo de proteína envolve a degradação da proteína em peptídeos, AA e amônia pelos microrganismos ruminais. As bactérias do rúmen utilizam o N para sintetizar a proteína microbiana e enzimas necessárias para o processo de digestão (Kim e Lee, 2021). Para as exigências dos microrganismos ruminais é necessário até 5mg de N/dL, quando se atinge esse nível, a disponibilidade do N amoniacal deixa de ser um fator limitante para o crescimento dos microrganismos no rúmen (Satter e Slyter, 1974). Entretanto, deficiências de N no rúmen, podem reduzir a atividade microbiana, comprometendo a degradação dos carboidratos e resultando no acúmulo de alimento no rúmen o que causa diminuição do consumo de matéria seca (CMS) (Giallongo *et al.* 2016; NASEM, 2021).

Esta deficiência limita o aporte de energia disponível para o ruminante e o desempenho fica prejudicado, manifestando-se pela menor produção de leite e de produção de proteína de leite (Hutjens, 2018; Danes *et al.*, 2023b). Por outro lado, a amônia que não é utilizada pela microbiota ruminal é absorvida pela parede ruminal e transportada para o sangue, chegando até ao fígado onde é convertido em ureia, uma substância menos tóxica. Posteriormente, a ureia é excretada principalmente pela urina (Hutjens, 2018; Li; Titgemeyer; Hanigan, 2019) (Figura 1). Além disso, o N não digerido no trato gastrointestinal é eliminado

nas fezes. No entanto, os ruminantes têm a capacidade de reciclar a ureia de volta ao trato gastrointestinal através da saliva ou através da parede ruminal (Lapierre e Lobley, 2001). Essa ureia pode servir como fonte de amônia para a microbiota ruminal (Reynolds e Kristensen, 2008).



**Figura 1:** Origens e vias de excreção do N na vaca leiteira. Adaptado por Mapanzene, 2025.

AA= aminoácidos; PB= proteína bruta; CHO= carboidrato; PDR= proteína degradada no rúmen; PNDR= proteína não degradada no rúmen; NUP= nitrogênio ureico no plasma; NUL= Nitrogênio ureico no leite; N= nitrogênio.

### 2.3 Eficiência de uso do nitrogênio

O termo eficiência de uso do nitrogênio (EUN), descreve a capacidade que os ruminantes têm de converter o N da dieta em proteína do leite, podendo ser expressa como (N leite/N consumido) (Lavery e Ferris, 2021). Huhtanen e Hristov (2009), relataram que uma média de 25% do N obtido da ração total consumida pelas vacas é secretado no leite, sendo que o restante é excretado na urina e fezes, o que representa uma perda com impacto ambiental significativo. A redução da EUN com o aumento de PB na dieta, está intimamente associada a conversão ineficiente da proteína degradada no rúmen (PDR) em proteína microbiana, principalmente quando a degradação ocorre de forma rápida, levando ao

acúmulo da amônia que excede a capacidade dos microrganismos ruminais (Angelidis, 2019) (Figura 1).

Por esse motivo, algumas pesquisas reportaram que reduzir o teor de PB na dieta, poderia ser uma alternativa para minimizar os prejuízos econômicos causados pela perda de N através da urina e das fezes (Olmos Colmenero e Broderick, 2006; AGLE *et al.* 2010; Arriola Apelo; Knapp; Hanigan, 2014), além de reduzir os prejuízos causados pelo impacto ambiental (Calsamiglia *et al.* 2010; Arriola Apelo *et al.*, 2014b). No entanto, é importante considerar que isso pode acarretar em perdas financeiras para os produtores, visto que a redução de proteína na dieta está diretamente relacionada à diminuição da produção de leite (Arriola Apelo; Knapp; Hanigan, 2014).

Desta forma, o fornecimento ideal de PDR e a otimização da eficiência de utilização dos AA absorvidos para a síntese de proteína do leite, podem ser as possíveis estratégias para se alcançar a melhoria na EUN (Dijkstra *et al.* 2013), sendo crucial a determinação das necessidades de proteína baseadas em modelos que avaliam as demandas da população microbiana presente no rúmen por compostos nitrogenados e as necessidades do animal por proteína metabolizável (Danes *et al.*, 2013).

Algumas estratégias para avaliar a EUN em vacas leiteiras são adotadas, sendo uma delas o monitoramento de nitrogênio ureico no leite (NUL) (Hof *et al.*, 1997). Doska *et al.* (2012), realizaram um estudo sobre os níveis de NUL em rebanhos leiteiros, analisando um extenso conjunto de dados composto por de 16.013 vacas leiteiras no estado de Paraná, Brasil. Os resultados indicaram uma média de  $14,45 \pm 4,60$  mg/dL, evidenciando a variação natural dessa métrica entre os animais avaliados. Valores acima desse intervalo podem indicar excesso de proteína na dieta, enquanto que valores abaixo podem sugerir deficiência proteica.

## **2.4 Impacto ambiental das perdas de Nitrogênio**

As emissões do N provenientes da pecuária representam aproximadamente um terço das emissões totais induzidas por atividades humanas na atualidade (Chase; Higgs; Van Amburgh, 2012; Uwizeye *et al.* 2020), sendo a principal fonte para o impacto ambiental, o N proveniente da urina e fezes (Røjen; Theil; Kristensen, 2011; Chase; Higgs; Van Amburgh, 2012). O N excretado pela urina e pelas fezes impacta o meio ambiente de diversas formas, por um lado o excesso de N da dieta é excretado na urina na forma de ureia e as fezes são compostas de N não digerido, N não digerido da proteína microbiana e N endógeno (Lapierre *et al.* 2007; Tamminga, 2010; Dijkstra *et al.*, 2013).

Os excrementos podem contribuir para emissão de amônia e óxido nitroso via volatilização (Hristov *et al.* 2004; Huhtanen *et al.*, 2015). Lockyer e Whitehead (1990), observaram que a volatilização de amônia proveniente do N urinário foi de pelo menos 5 a 6 vezes superior à do N fecal. Adicionalmente, Sajeev *et al.* (2018), relataram que a liberação de N na forma de amônia, pode contribuir para eutrofização de ecossistemas terrestres, resultando na diminuição da biodiversidade e na acidificação do solo devido à deposição de compostos nitrogenados.

Além disso, a excreção de N no ambiente, pode contribuir para a poluição de água (Mottet *et al.*, 2018). Pakrou e Dillon (1995), relataram em sua pesquisa que 24% do N proveniente da urina foi lixiviado a uma profundidade aproximadamente a 150 mm em um campo sem irrigação e o restante do N urinário no solo foi convertido de ureia em amônio em um período de 24 horas. A contaminação das águas por meio do escoamento superficial e da lixiviação, pode levar a um crescimento acelerado de algas e outras plantas aquáticas e consequentemente diminuição do oxigênio dissolvido na água, causando deste modo condições de hipóxia ou anóxia que podem levar à morte de peixes e outros organismos aquáticos (Withers *et al.*, 2014).

Mais do que isso, o mau gerenciamento do esterco pode ser uma das formas de emissões de amônia dentro do setor pecuário (Arriaga *et al.*, 2010). Ou seja, a utilização de estrume na agricultura intensifica as emissões de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), um potente gás do efeito estufa com um potencial de aquecimento global, aproximadamente 300 vezes superior ao dióxido de carbono (Eggleston *et al.*, 2006).

Estratégias para mitigar o impacto ambiental envolvem ajustes no fornecimento de proteína aos ruminantes (Dijkstra *et al.* 2013). Nesse contexto, a redução de proteína na dieta e o uso de AA protegidos pode melhorar a eficiência do N ingerido (Lapierre *et al.* 2007; Lee *et al.* 2015; Giallongo *et al.* 2016; Appuhamy, 2019). Ademais, práticas adequadas de manejo do esterco podem minimizar as perdas de N para o meio ambiente, sendo uma das formas, o armazenamento do esterco em sistemas anaeróbicos, reduz as emissões de amônia e óxido nitroso (Chadwick *et al.* 2011), além da otimização dos sistemas produtivos sugerido por Calsamiglia *et al.* (2010), como a separação de animais por estagio de lactação e nível produtivo permitindo deste modo o ajuste melhor das dietas às necessidades individuais, reduzindo o desperdício de proteína e as excreções de N.

## **2.5 Exigências de proteína para vacas leiteiras: Transição do NRC (2001) ao NASEM (2021)**

Com a busca crescente pela EUN, alinhada a pressão social de reduzir o impacto ambiental, houve um impulso no desenvolvimento de modelos que estimam o maior aproveitamento da proteína (Schwab e Broderick, 2017; Lapierre *et al.*, 2020). Como resultado, após duas décadas, novas exigências nutricionais, foram estabelecidas, acompanhadas por uma atualização na nomenclatura.

A oitava edição das Exigências Nutricionais para Gado Leiteiro passou a ser publicada pelo nome Academia Nacional de Ciências, Engenharia e Medicina (NASEM), substituindo a antiga denominação do Conselho Nacional de Pesquisa (NRC). O comitê do NASEM revisou amplamente as exigências nutricionais para bovinos leiteiros, sendo que a seção da proteína apresentou as mudanças mais significativas em relação ao NRC (2001).

A manutenção e a lactação são os dois principais fatores que determinam a exigência de proteína em vacas leiteiras durante o período de lactação. Entretanto, com o objetivo de reduzir a excreção de nutrientes das vacas leiteiras, o NASEM (2021) enfatiza a eficiência de uso de N em proteína do leite (Lapierre *et al.*, 2020).

### **2.5.1 Proteína degradada no rúmen e proteína não degradada no rúmen**

Nos primeiros modelos de nutrição proteica de ruminantes, para a formulação de dietas e caracterização de ingredientes considerava-se a proteína bruta (NRC, 1978). Com o tempo, a PB foi subdividida em PDR e PNDR (Van Soest, 1994). A PDR é a porção da proteína que é hidrolisada pelos microrganismos ruminais, liberando peptídeos, AA livres e amônia os quais são utilizados para o crescimento microbiano e para a síntese de proteína microbiana. Em contraste, a PNDR é a proporção da PB nos alimentos que passa pelo rúmen sem ser degradada ou incorporada à proteína microbiana (Berchielli *et al.* 2011; NASEM, 2021). Essa subdivisão foi influenciada por avanços no conhecimento sobre a degradação microbiana e a absorção de AA no intestino delgado (Bach; Calsamiglia; Stern, 2005), proporcionando vantagens pois auxilia na formulação de dietas que reduzem os impactos ambientais (Castillo *et al.*, 2000) e permite minimizar os custos com suplementação excessiva de proteína, garantindo maior eficiência econômica (Huhtanen *et al.*, 2008; Arriola Apelo; Knapp; Hanigan, 2014).

Segundo NASEM (2021), as recomendações de PDR passaram a ser fixas com o mínimo de 10% e o máximo de 12% na matéria seca (MS). O NRC (2001), apresentava uma

tendência de superestimar a quantidade de PNDR e subestimar a PDR. Com a revisão do NASEM (2021), as taxas de passagem foram reduzidas de 6,69% para 5,28%/hora nos concentrados e 5,07 para 4,87%/h nas forragens. Essa redução impactou diretamente as estimativas da PNDR, resultando em uma menor quantidade disponível em todos os alimentos, como consequência, a composição do fluxo total de proteína foi alterada, evidenciando maior contribuição da proteína microbiana e uma redução no aporte de PNDR.

A nutrição proteica de vacas leiteiras em lactação busca maximizar a síntese de Pmic, garantir um suprimento adequado de PNDR e de aminoácidos essenciais (AAE) para a produção de leite, além de minimizar as perdas de N e otimizar o aproveitamento da proteína da dieta (NASEM, 2021). No entanto, a degradação de proteína ruminal, a digestibilidade intestinal e a composição de AA das fontes proteicas variam amplamente, tornando essencial o conhecimento preciso de seu valor alimentar (Titze *et al.*, 2024). Estudos demonstram que a redução do suprimento de PDR pode comprometer a síntese da Pmic e reduzir o CMS (Firkinset *al.* 2006; Ipharraguerre e Clark, 2014). Por outro lado, a digestibilidade intestinal de PNDR é avaliada por meio de diferentes métodos, como técnicas *in situ* ou *in vitro* (NASEM, 2021; Titze *et al.*, 2024).

### **2.5.2 Aporte de proteína microbiana**

Quantidade adequada de PDR é necessária para maximizar a produção da Pmic, digestibilidade de fibra em detergente neutro (FDN) e o CMS (NASEM, 2021). A proteína microbiana (Pmic), contribui com de 50% a 80% para o aporte de proteína metabolizável (Storm e Ørskov, 1983) tem alta digestibilidade intestinal (mais de 80%), possui um alto valor biológico, ou seja, contém o perfil de AA muito próximo das necessidades do animal e 80 % da Pmic é proteína verdadeira (Schwab e Broderick, 2017; NASEM, 2021).

Vários autores desenharam sistemas para a predição da Pmic (Fox *et al.* 2004; Huhtanen e Hristov, 2009). O N microbiano por sua vez, pode ser estimado com base na disponibilidade de PDR e na proporção estimativa de carboidratos degradáveis no rúmen (White *et al.*, 2017). A PDR constitui uma fonte importante de N para síntese de Pmic. No entanto, produtores de leite estão em busca crescente de gado de leite com alta eficiência (Brito *et al.* 2020), sendo primordial uma suplementação proteica que contorna o rúmen e libera AA para absorção no intestino delgado (NASEM, 2021).

O NASEM (2021), desenvolveu uma equação refinada, para estimar a produção de proteína do leite integrando os efeitos independentes da ingestão de energia digestível e da

disponibilidade de AA absorvidos, destacando-se entre esses AA a histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys) e metionina (Met), devido a sua importância no metabolismo proteico e no suporte a síntese eficiente da proteína do leite (Carneiro *et al.*, 2024). Esse modelo indica uma melhoria na predição de proteína do leite.

### 2.5.3 Proteína metabolizável

Predizer a Pmic e a PNDR sempre foi de extrema importância na formulação de dietas para vacas leiteiras em lactação, pois estas constituem o aporte de AA para a proteína metabolizável (PM). A PM foi descrita pelo NASEM (2021), como sendo o total de AA absorvidos no intestino advindos da Pmic e PNDR, sem incluir a proteína endógena como era contabilizado no NRC (2001). A justificativa da exclusão da proteína endógena é o fato dela não causar nenhum aumento líquido na proteína metabolizável (Lapierre *et al.*, 2006). A proteína microbiana é baseada na quantidade de amido e fibra digeridos no rúmen, calculados com base na composição da dieta. As exigências de PM não são constantes e estão relacionadas ao fornecimento de energia e ao estado fisiológico das vacas (NASEM, 2021).

O NRC (2001) apresentava uma tendência a superestimar o leite permitido por PM em vacas de alta produção, enquanto subestimava em vacas de menor produção. Essa discrepância derivava, em parte da sua suposição de que a eficiência de conversão de PM em proteína do leite, após atender as exigências de manutenção era fixa em 65%, independentemente do nível de produção de leite ou das condições individuais da vaca. Além disso, essa limitação se estendia na utilização de AA, os quais eram considerados como uma porcentagem fixa na PM, sem considerar a variabilidade nas demandas específicas ou na eficiência na utilização dos nutrientes (Hanigan *et al.*, 2013; Danes *et al.*, 2023a).

Em uma metanálise, Hanigan *et al.* (2024), compilaram estudos que indicaram que a eficiência da PM na síntese de proteína do leite é influenciada pela interação de vários AA e energia (Rius *et al.* 2010; Toerien; Trout; Cant, 2010). Esse efeito pode ser explicado pelo fato de que a via de sinalização mTOR (mammalian target of rapamycin), um regulador do metabolismo proteico e da síntese de proteína do leite, responde de forma independente e aditiva a diferentes AAE, disponibilidade de energia e estímulos hormonais como a insulina, IGF-1 (Rius *et al.* 2010; Castro *et al.* 2016; Danes *et al.*, 2023a).

A energia fornecida por carboidratos fermentáveis como o amido é essencial para a síntese de proteína, pois o processo demanda ATP. Sem energia suficiente, mesmo o fornecimento adequado de AA não resultará em uma alta eficiência de produção (Castro *et al.*

2016; Danes *et al.*, 2020). Por outro lado, a FDN contribui para a saúde ruminal e fornece energia pela fermentação, o que sustenta a produção de proteína microbiana, garantindo assim a maximização da eficiência da PM e o peso corporal influencia as necessidades de manutenção e conseqüentemente a alocação de nutrientes para a produção (Hanigan *et al.*, 2021).

Em termos mais claros, a glândula mamária é altamente dependente de energia para sustentar o processo de síntese de leite, desta forma, quando o tecido mamário recebe um fornecimento energético adequado, ele consegue produzir leite próximo ao seu potencial máximo, o que por sua vez aumenta a eficiência na captação de AA do fluxo sanguíneo, em contraste, em condições de oferta de energia insuficiente, a síntese de proteína do leite é reduzida, levando a uma menor extração de AA pela glândula mamária (Danes *et al.*, 2020). Desta forma, esses fatores todos foram incorporados na equação de predição de proteína do leite no NASEM (2021), permitindo um balanceamento mais preciso e eficiente: os cinco AAE: histidina, isoleucina, leucina, lisina e metionina. Além desses AA, outros fatores como a energia digestível fornecida por fontes não proteicas, a digestibilidade da FDN e o peso corporal (PC) da vaca, também afetam diretamente a produção de proteína de leite. Os demais 15 AA são tratados como um somatório, contribuindo de forma geral para atender as demandas da síntese proteica.

$$\text{Proteína do leite (g/d)} = -97 + 1,68 \times \text{His} + 0,885 \times \text{Ile} + 0,466 \times \text{Leu} + 1,15 \times \text{Lis} + 1,84 \times \text{Met} + 0,077 \times \text{Outros AA} + 10,8 \times \text{CEDp} - 4,6 \times (\text{FDNd} - 17,06) - 0,420 \times (\text{PC} - 612) - 0,00215 \times \sum \text{AAE}^2 \text{a (NASEM, 2021)}.$$

Onde: His: histidina; Ile: isoleucina; Leu: leucina; Lis: lisina; Met: metionina; Outros AA: aporte de aminoácidos não essenciais absorvidos mais arginina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina; CEDp: consumo de energia digestível não proteica (Mcal/dia); FDNd: fibra em detergente neutro digestível (% da MS); PC: peso corporal (kg); EAA: aminoácidos essenciais (g absorvidos/dia); AAEb<sup>2</sup>: representa o aporte ao quadrado década um dos AAEs presentes na equação.

#### 2.5.4 Fornecimento de Aminoácidos

Os AA são os blocos de construção para síntese das proteínas (NASEM, 2021). Embora existam mais de 200 AA diferentes na natureza, apenas 20 deles são usualmente encontrados como constituintes das proteínas em organismos vivos, sendo considerados AAE, aqueles que as células animais não conseguem sintetizar por si só em quantidades

suficientes para atender as necessidades, havendo a necessidade de obtê-los a partir da dieta (NASEM, 2021), sendo considerados 10 AAE: histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Fen), treonina (Tre), triptofano (Trp), valina (Val) e arginina (Arg). Por outro lado, AA não essenciais (AANE) são aqueles que o organismo pode sintetizar em quantidade adequada, desde que haja um fornecimento suficiente de nitrogênio, sendo esses AANE: a alanina (Ala), asparagina (Asn), aspartato (Asp), cisteína (Cys), glutamato (Glu), glutamina (Gln), glicina (Gly), prolina (Pro), serina (Ser) e tirosina (Tyr) (Patton *et al.* 2014; NASEM, 2021).

Os AA que chegam no duodeno para serem digeridos e absorvidos, são provenientes da Pmic e da PNDR (Fleming *et al.* 2019; NASEM, 2021). O NRC (2001), considerava o *pool* de AA absorvidos como uma única entidade nutricional a PM, entretanto, o NASEM (2021), destacou que os tecidos metabolizam cada AA de maneira distinta para o suprimento de AA para a glândula mamária e para a eficiência de utilização de cada um deles no processo de síntese de proteína do leite (Arriola Apelo *et al.* 2014a; Lapierre *et al.* 2020; Danes, 2023b).

Ademais, o NRC (2001), considerava o princípio de barril, onde a deficiência de um AA limitava a produção da proteína do leite, sendo os AA considerados como limitantes na PM a Lys e a Met (Schwab e Broderick, 2017). No entanto, diversos modelos foram desenvolvidos para aprimorar a predição mais precisa da proteína do leite (Lean *et al.* 2018; Lapierre *et al.*, 2020). Dessa forma o NASEM (2021), não considera a teoria do barril e esses AA não são mais limitantes.

Deste modo, as recomendações para AA passaram a adotar uma abordagem fatorial, substituindo a abordagem proporcional utilizada no NRC, (2001). Isso significa que as recomendações de AAE são baseadas em uma avaliação quantitativa que considera a soma das quantidades necessárias para atender a cada função metabólica específica. A abordagem adotada segue o mesmo princípio utilizado para a PM, aplicando uma eficiência combinada para cada AA, desde que os requisitos energéticos sejam devidamente atendidos (Danes, 2023a).

Uma vez que a Pmic oferece maior aporte da PM, inclui também os AAE quanto os AANE, por esse motivo, o objetivo principal nas formulações leiteiras deve ser proporcionar condições adequadas para a síntese da Pmic (Patton *et al.* 2014; Schwab e Broderick, 2017). Entretanto, ela é deficiente em His (Kim; Choung; Chamberlain, 2000; Patton *et al.* 2014; Appuhamy, 2019).

Mais do que isso, os AA são importantes no crescimento e desenvolvimento dos animais, a sua suplementação melhora o desempenho, especialmente em dietas com teores reduzidos de PB (Lee *et al.* 2012; Amburgh *et al.*, 2015). Colmenero e Broderick (2006), observaram aumento de produção de leite em vacas holandesas, alimentadas com dietas ricas em PB, no entanto, essas vacas apresentaram baixa EUN. Esses autores, sugeriram que a redução do teor de proteína nas dietas de vacas leiteiras pode ser uma estratégia para melhorar a EUN, entretanto, como já relatado no tópico “eficiência no uso de nitrogênio” dessa dissertação, a redução da EUN além de causar perdas econômicas para os produtores, impacta o ambiente de forma negativa (Sajeev *et al.*, 2018).

Além disso, níveis inadequados de proteína na dieta, conduzem a uma deficiência de um ou mais AAE, o que pode causar redução da síntese de proteína do leite em vacas em lactação (Arriola Apelo *et al.*, 2014b). Diante disso, algumas pesquisas sugeriram que a suplementação com AA pode mitigar os possíveis efeitos negativos da diminuição da oferta de proteína na dieta sobre a síntese de proteína de leite (prick *et al.* 2008; Hristov e Giallongo, 2014). Entretanto os AA são facilmente catabolizados pela microbiota ruminal, havendo a necessidade de protegê-los da degradação ruminal para garantir a sua disponibilidade no intestino delgado (Schwab e Broderick, 2017; NASEM, 2021).

### **2.5.5 Aminoácidos protegidos da degradação ruminal**

A suplementação de AAE deficientes na forma protegida em dietas com baixo teor de PB, pode ser uma estratégia eficaz para evitar deficiências e otimizar a síntese de proteína do leite. Os AA como a Met, Lys, Leu, His e Arg, têm recebido foco de estudo pelos pesquisadores. Esses fatos fundamentam-se pela função que os AA desempenham no organismo de ruminantes, atuando como reguladores metabólicos, com efeitos positivos na saúde das vacas leiteiras. Algumas pesquisas relataram correlações positivas entre a suplementação dos AA protegidos e a síntese de gordura de leite (Danes *et al.* 2016; Li *et al.* 2016; Wei *et al.* 2022), na reprodução de vacas leiteiras (Toledo *et al.*, 2017). Esses autores observaram redução de abortos em vacas multíparas suplementadas com metionina protegida. Da mesma forma, na produção de leite e proteína do leite (Mazinani *et al.* 2020; Cardoso *et al.* 2021), bem como o aumento de peso ao nascer dos bezerros quando as vacas foram suplementadas com metionina protegida no período de transição (Davidson *et al.*, 2023).

Xiaoshi Wei *et al.* (2023), suplementando vacas Holandesas em lactação com a produção média de leite de  $32.6 \pm 3.7$  kg com RPLys em dietas com 16% e 18 % de PB

observaram aumento da produção de proteína do leite e na EUN em vacas alimentadas com menor teor de PB em comparação com aquelas alimentadas com maior teor de PB. No entanto, esse efeito não foi observado em uma pesquisa feita anteriormente por Giallongo *et al.* (2016). Esses autores observaram redução na porcentagem de proteína do leite de vacas holandesas com uma produção média de  $40.8 \pm 6.80$  kg/d quando adicionaram apenas a Lys ou a Met protegidas à uma dieta deficiente em PB (14,8% PB), entretanto, quando a adição incluiu a His, Met e Lys juntos resultou em melhoria na porcentagem de proteína do leite estando ao nível da dieta que continha 16,1% PB, sugerindo que quando combinados os AA protegidos, o resultado pode ser ainda mais significativo, existindo aumento da produção de leite e de proteína do leite, além da EUN (N leite/N consumido).

Adicionalmente, Van den Bossche *et al.* (2023), suplementaram vacas holandesas com Met, Lys e His protegidos da degradação ruminal. As vacas apresentavam uma produção média de leite de  $32,7 \pm 5,75$  kg/dia. Esses autores não observaram efeitos da suplementação sobre o CMS, produção de leite, produção de proteína do leite e a EUN. Esses resultados, sugerem que maior resposta positiva da suplementação dos AAE pode ser observada em vacas de alta produção.

A colina tem recebido foco nas pesquisas para a melhoria no metabolismo e na saúde de vacas leiteiras. Marques *et al.* (2024), observaram melhoria no desempenho e saúde, quando ofereceram colina protegida na ração total de vacas holandesas no período de transição. Ademais, em uma metanálise conduzida por Arshad *et al.* (2020), relataram tendências de redução de retenção placentária quando a colina foi administrada de forma protegida para vacas leiteiras no período de transição. Além disso, os mesmos autores relataram aumentos de produção de leite e de seus componentes em vacas paridas, sugerindo melhoria na performance das vacas.

Por outro lado, a Leucina em uma pesquisa foi associada com a ativação da tradução proteica (Saxton *et al.*, 2016) e do aumento de produção da proteína do leite (Arriola Apelo *et al.*, 2014b; Nichols *et al.*, 2017). Adicionalmente, Yoder *et al.* (2020), observaram aumento na proteína de leite em vacas holandesas múltiparas de alta produção ( $> 50$  kg de leite/dia) quando infundiram a Leu na jugular.

## 2.6. Pesquisas de levantamento

Uma pesquisa de levantamento consiste em um conjunto de perguntas elaboradas para coletar dados ou opiniões específicas de um grupo determinado de indivíduos (Dillman;

Smyth; Christian, 2014). É amplamente utilizada por pesquisadores em diversas áreas (Silva *et al.* 2019; Silvestre e Millen 2021; Prestegaard- Wilson *et al.*, 2021).

No geral, pesquisas de levantamento podem ser presenciais (Fulwider *et al.* 2008; Vasseur *et al.* 2010), por correio (Weigel e Barlass, 2003; Caraviello *et al.* 2006; Heuwieser *et al.*, 2009), por entrevista telefônica (DuBenske *et al.*, 2014) e online. Apresentam diversas vantagens, como o baixo custo de implementação e a facilidade de alcançar uma população ampla e diversificada (Vasconcelos e Galyean, 2007; Samuelson, 2015; Silva *et al.* 2019; Silvestre e Millen, 2021).

Essas características tornam os questionários uma ferramenta eficiente para coletar percepções abrangentes (Prestegaard- Wilson *et al.*, 2021). Contudo, é importante reconhecer algumas limitações como a baixa taxa de resposta, que pode introduzir viés de não resposta (ausência de respostas de uma parte da amostra) (Fincham, 2008; Prestegaard-Wilson *et al.*, 2021). Apesar dessa limitação, o questionário continua sendo um instrumento valioso na pesquisa, proporcionando dados estruturados que auxiliam na obtenção de percepções e no avanço do conhecimento em diversas áreas (Bernardes e Rêgo, 2014; Buza e Holden 2016; Silva *et al.* 2019; Silvestre e Millen, 2021).

A pesquisa de levantamento online é uma metodologia de coleta de dados via plataformas digitais, utilizando internet para a disponibilização dos questionários. Diversas formas de contato podem ser utilizadas para convidar os participantes, como e-mail (Vasconcelos e Galyean, 2007; Harrison *et al.* 2012; Buza e Holden, 2016; Prestegaard-Wilson *et al.* 2021), telefone (Millen *et al.*, 2009; Samuelson, 2015 ) ou uma combinação de vários métodos (telefone, e-mail e redes sociais) (Silva *et al.* 2021; Fadul-Pacheco *et al.* 2022; Duplessis; Wright; Bejaei, 2023), podendo empregar técnicas quantitativas, como a aplicação de questionários com respostas classificadas em números, ou utilizar abordagens qualitativas, como a formulação de perguntas abertas. Também é possível combinar ambas as abordagens, adotando métodos mistos (Prestegaard- Wilson *et al.*, 2021).

Uma das vantagens da pesquisa online é a possibilidade de reduzir ou até eliminar a dependência física, que é uma característica de questionários presenciais (Maymone, 2018). Outros benefícios estão relacionados com a proteção contra a perda de informações (conservação por longos períodos) e a facilidade de transferi-las diretamente para um banco de dados para posterior análise (Prestegaard- Wilson *et al.* 2021; Duplessis; Wright; Bejaei, 2023).

## **2.6.1 Tipos de perguntas aplicadas a um questionário**

### **2.6.1.1 Perguntas fechadas**

As perguntas fechadas são aquelas que oferecem um conjunto limitado de respostas possíveis, geralmente pré-definidas. Elas são amplamente utilizadas devido à sua estrutura objetiva e facilidade de análise, nesse tipo de perguntas, os pesquisadores elaboram as respostas fixas para os entrevistados. Esse tipo de perguntas não permite que o respondente elabore ou explique suas respostas, sendo mais objetivas e diretas, podendo ser perguntas com as respostas de apenas sim ou não, de múltipla escolha, em que geralmente o respondente tem várias opções para escolher, perguntas escalonadas ou de classificação, onde as respostas são classificadas em uma escala (Prestegaard- Wilson *et al.*, 2021).

Outra característica desse tipo de perguntas, é a padronização dos seus dados podendo facilmente serem organizados em tabelas e gráficos (Malhotra, 2006). Além disso, perguntas fechadas reduzem o risco de interpretações ambíguas garantindo que todos os respondentes compreendam e respondam às questões de maneira semelhante, contribuindo para maior consistência dos dados e redução de variabilidade das respostas (Roopa e Rani, 2012).

Fowler (2013), destacou em sua pesquisa que perguntas fechadas podem economizar o tempo tanto para o pesquisador, quanto para os respondentes, pois, os participantes não precisam elaborar respostas, o que pode aumentar a taxa de respostas e reduzir a desistência durante a pesquisa. Por esse motivo, alguns autores optam por utilizar perguntas fechadas ou semifechadas em seus questionários, com o objetivo de reduzir o tempo necessário para sua conclusão (Vasseur *et al.* 2010; Phipps *et al.*, 2016).

Entretanto, é importante reconhecer que esse tipo de perguntas pode limitar as opções disponíveis aos respondentes, excluindo alternativas que não foram previamente consideradas pelo pesquisador, o que pode resultar na perda de informações valiosas (Bryman, 2012). Além disso, esse tipo de perguntas pode não ser adequadas para explorar opiniões, atitudes ou percepções complexas, pois restringem a liberdade de expressão dos participantes (Fowler, 2013).

### **2.6.1.2 Perguntas abertas**

As perguntas abertas permitem que os respondentes expressem suas opiniões com as suas próprias palavras, sem serem limitados por opções ou categorias predefinidas (Roopa e Rani, 2012). Projetadas para oferecer liberdade na expressão de ideias, essas perguntas são especialmente úteis para explorar crenças, sentimentos e percepções que dificilmente poderiam ser capturados por perguntas fechadas (Bernardes e Rêgo, 2014; Prestegaard-Wilson *et al.*, 2021). Além disso, por não apresentarem opções pré-determinadas, as perguntas reduzem a influência do pesquisador nas respostas, promovendo maior autenticidade e espontaneidade nas declarações dos participantes (Patton, 2014). Essa abordagem também proporciona detalhes ricos e informações que poderiam ser negligenciadas nas perguntas com alternativas fixas (Creswell, 2014).

Embora esse tipo de perguntas apresente inúmeras vantagens, também apresenta desvantagens relacionadas à dificuldade na análise e interpretação dos dados, o que pode dificultar a compreensão das reais intenções dos respondentes (Roopa Rani, 2012). Ademais, as perguntas abertas podem exigir esforço dos participantes que geralmente as consideraram complexas, no entanto, existem respostas que só podem ser obtidas através de perguntas abertas e existem aquelas que se adequam melhor nas perguntas fechadas, sendo necessário deste modo, equilibrar os dois tipos de perguntas nos questionários (Prestegaard-Wilson *et al.* 2021; Harrison *et al.* 2021; Fadul-Pacheco, 2022; Duplessis; Wright; Bejaei, 2023).

### **2.6.2 Pré-testagem do questionário**

A pré-testagem do questionário, é uma etapa fundamental para garantir a qualidade dos dados coletados. Nesse processo, uma amostra aleatória é selecionada para responder ao questionário, permitindo alguns ajustes (Vasseur *et al.* 2010; Prestegaard- Wilson *et al.*, 2021; Duplessis; Wright; Bejaei, 2023). De acordo com Dillman, Smyth e Christian (2014), essa fase envolve avaliação de diversos aspectos, como a clareza das perguntas, a capacidade que as perguntas têm para alcançar os objetivos propostos, a ordem das perguntas e a compreensão por parte de diferentes perfis de respondentes. Além disso, essa etapa permite identificar a necessidade de incluir perguntas adicionais, refinar perguntas específicas ou eliminar aquelas que sejam irrelevantes ou redundantes.

### **2.6.3 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Um aspecto fundamental em pesquisas científicas é o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), reconhecido como uma ferramenta essencial para garantir que os participantes compreendam plenamente a natureza do estudo antes de consentir com sua participação. O TCLE protege tanto os participantes quanto os pesquisadores, assegurando que informações claras sobre os potenciais riscos e benefícios do estudo sejam fornecidas (Duplessis; Wright; Bejaei, 2023). Em pesquisas online é igualmente importante que sejam adotadas medidas para garantir a confidencialidade, de forma que nenhum participante possa ser identificado, reforçando a ética da pesquisa e promovendo a confiança entre os participantes e os pesquisadores (Heuwieser *et al.* 2009; Bernardes e Rêgo, 2014; Silva *et al.* 2019; Harrison *et al.* 2021; Fadul-Pacheco *et al.*, 2022; Duplessis; Wright; Bejaei, 2023).

#### **2.6.4 Obrigatoriedade das perguntas**

Tornar as perguntas obrigatórias em questionários apresenta vantagens como a redução de respostas em branco, contribuindo para a integridade dos dados coletados e evitando omissões que poderiam comprometer a análise estatística (Dillman; Smyth; Christian, 2014). Além disso, a obrigatoriedade garante que o mesmo conjunto de dados seja obtido de todos os participantes, aumentando a uniformidade e consistência dos resultados (Bryman, 2016). Por outro lado, ao exigir que todas as perguntas sejam respondidas antes de avançar pode elevar a taxa de desistência, especialmente em questionários extensos ou que contenham questões sensíveis, desconfortáveis ou difíceis de responder. Nesse contexto, alguns autores optaram por não tornar as perguntas obrigatórias (Harrison *et al.*, 2023) ou por aplicar essa exigência apenas em uma parte das questões (Heuwieser *et al.* 2009; Prestegaard-Wilson *et al.* 2021; Fadul-Pacheco *et al.*, 2022).

#### **2.6.5 Análise de dados em pesquisas de levantamento**

##### **2.6.5.1 Estatística descritiva**

A estatística descritiva é geralmente a primeira etapa da análise de dados provenientes de questionários, sendo empregada para resumir as características principais do conjunto de dados. As técnicas aplicadas incluem análise de frequências, medidas de tendência central (média, mediana e moda) e a dispersão dos dados (desvio-padrão e variância) (Creswell, 2003). Estudo como os de Silva *et al.* (2019); silvestre e Millen (2021); Prestegaard- Wilson *et al.*, (2021) e Duplessis, Wright, Bejaei (2023), aplicaram estatísticas descritivas nos seus dados.

### 2.6.5.2 Análise de correspondência

Análise de correspondência é uma técnica empregada para explorar e visualizar as relações entre categorias de variáveis qualitativas. Ela permite interpretar dados categóricos complexos, identificando associações baseadas nas frequências observadas em conjuntos de dados extensos. De maneira simplificada, essa técnica transforma as frequências em distâncias que podem ser representadas graficamente, utilizando mapas ou gráficos bidimensional e tridimensional, esses gráficos ilustram as relações entre os elementos com base na proximidade entre eles (Glynn, 2014).

Por outro lado, quando a quantidade de dados é pequena, pode parecer uma correlação forte, entretanto, é provável que sejam resultados do acaso. Nesse sentido, a distância qui-quadrado é projetada para ajustar e corrigir esse viés. Ela detecta desvios significativos, verificando se as ocorrências entre categorias são estatisticamente significativas ou apenas reflexo de números baixos. Dessa forma, a métrica tenta identificar padrões reais nas relações entre as características, ignorando variações que podem ser apenas aleatórias devido ao tamanho pequeno de amostras (Greenacre, 2006; Glynn, 2014).

As variáveis categóricas para análise de correspondência, são organizadas em uma tabela de contingências, onde as linhas representam uma variável e as colunas outra, sendo possível visualizar como as categorias das variáveis estão relacionadas entre si.

Glynn (2014), reportou a existência de pelo menos três tipos de análise de correspondência binária e três tipos de análise de correspondência múltipla, sendo a análise de correspondência binária considerada a base para a análise de correspondência múltipla, possuindo algumas vantagens. A análise de correspondência binária permite identificar a porcentagem de variação explicada por cada eixo, o que fornece uma métrica clara sobre a qualidade do ajuste de análise de dados, isto é, é possível verificar o quanto da variação ou se a estrutura dos dados está sendo capturada pela análise.

Por outro lado, a principal vantagem de análise de correspondência múltipla é a possibilidade de incluir mais de dois fatores simultaneamente na análise, permitindo uma exploração mais abrangente e complexa dos dados, capturando interações e associações entre múltiplas variáveis categóricas, sendo útil especialmente em estudos que envolvem grandes conjuntos de dados, com várias dimensões. Análises de correlações entre as variáveis foram feitas por Pinto e Millen (2019); Silvestre e Millen, (2021).

### 2.6.5.2.1 Passo a passo para análise de correspondência

#### a) Codificação dos dados

A codificação baseia-se em identificar ideias padrões ou palavras-chave das respostas fornecidas pelos respondentes. Esses códigos funcionam como uma forma de definir, classificar e, posteriormente, reorganizar cada dado em categorias de agentes para análise posterior (Saldaña, 2011).

Exemplo de codificação: “nutrição”, “manejo”, genética”, “custos”.

b) O segundo passo consiste em **categorizar** os dados, que incide em agrupar os códigos iniciais em categorias ou temas principais que representem as ideias centrais.

Pode usar softwares como NVivo, MAXQDA ou Atlas.t para organizar e criar categorias dos dados. Estudo envolvendo questionários com perguntas abertas criaram categorias mensuráveis para interpretar as respostas dos participantes (Prestegaard- Wilson *et al.*, 2021)

c) Definir as variáveis: uma variável pode ser as categorias codificadas das respostas abertas e outra pode ser uma característica dos respondentes: estado, número de clientes, anos de experiência.

d) Construir tabela de contingência, cruzando as categorias das respostas com as características dos respondentes.

### 2.6.5.2.2 Análise de agrupamentos

É uma técnica estatística multivariada que organiza um conjunto de dados em grupos homogêneos, chamados de *clusters*, com base nas suas características compartilhadas pelos elementos (Hair *et al.*, 2019). O objetivo é maximizar a similaridade dentro de cada grupo e aumentar as diferenças entre os grupos, permitindo a identificação de padrões ocultos nos dados (Kaufman e Rousseeuw, 2005).

Como descrito na análise de correspondência, a análise de agrupamentos, exige uma estruturação e organização dos dados da seguinte forma:

a) codificar as respostas, exemplo: “sim”, “não”, “custo”, “dificuldades de armazenamento” e “disponibilidade”.

b) Transformar os dados em variáveis numéricas, pois para aplicar a análise de agrupamentos, será necessário transformar categorias qualitativas em dados numéricos que representem essas categorias. Exemplo: 1 indicando que a

categoria que foi mencionada e 0 indicando a ausência. Também pode usar o número de vezes que a categoria foi citada por cada respondente, usando a frequência relativa.

#### **2.6.5.2.2.1 Tipos de análise de agrupamento**

##### ✓ **K-means Clustering (Agrupamento K-médias)**

Este método é um dos métodos comuns na análise de agrupamentos, ele divide os dados em um número pré-especificado de grupos, sendo melhor para um conjunto maior de dados. Pode ser usado após o agrupamento hierárquico para otimizar a homogeneidade dentro dos clusters (Debortoli *et al.*, 2021).

##### ✓ **Hierarchical Clustering (Agrupamento Hierárquico)**

Este tipo de agrupamento, não requer um número pré-definido de grupos, cria uma árvore para mostrar como os indivíduos se agrupam, funcionando melhor para conjuntos pequenos e médios de dados. Podendo ser utilizado para ajustar os clusters de forma mais precisa (Debortoli *et al.*, 2021).

##### ✓ **DBSCAN**

Este método identifica clusters com base na densidade de pontos, sendo ideal para detectar *outliers* e agrupamentos irregulares. Em todos os tipos plotam-se os dados para o R. Os exemplos práticos incluem agrupar os nutricionistas por desafios enfrentados. Entretanto, os clusters são amplamente usados como ferramenta auxiliar a seleção de bovinos e classificação de comércio (Assis *et al.*, 2014).

#### **2.6.5.3 Análise de conteúdo**

Análise de conteúdo é um método de pesquisa utilizado para interpretar e descrever de forma sistemática e objetiva o conteúdo de dados qualitativos, como as perguntas abertas, identificando suas características, padrões e significados (Flick, 2009; Bardin, 2011), cujo objetivo é o particionamento de um conjunto de dados em subconjuntos ou agrupamentos com características comuns. Categorizar significa organizar sistematizar uma ampla gama de informações provenientes de uma pesquisa. A partir desses conjuntos de dados abrangentes e de unidades repletas de significado, é possível compreender com maior clareza as

especificidades de cada categoria, bem como as potenciais interações entre elas (Saldaña, 2011).

## REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-VILLEGAS, H. A. *et al.* **Dairy cow nitrogen efficiency.** University of Wisconsin–Extension. 2017. [https://www.virtualfarm.psu.edu/assets/uploads/content/DairyCap\\_DairyCowNitrogenEfficiency-Final-Final.pdf](https://www.virtualfarm.psu.edu/assets/uploads/content/DairyCap_DairyCowNitrogenEfficiency-Final-Final.pdf).
- APPUHAMY, R. 2019. **Beyond lysine and methionine: What have we learned about histidine?** Four-State Dairy Nutrition & Management Conference. Dubuque, IA.
- ARRIOLA APELO, S. I. *et al.* **Effects of reduced dietary protein and supplemental rumen-protected essential amino acids on the nitrogen efficiency of dairy cows.** J. Dairy Sci. 97:5688–5699. 2014b. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7833>.
- ARRIOLA APELO, S. I. *et al.* Isoleucine, leucine, methionine, and threonine effects on mammalian target of rapamycin signaling in mammary tissue. J. Dairy Sci. 97:1047–1056. 2014a. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7348>
- ARRIOLA APELO, S. I; J. R. KNAPP, AND M. D. HANIGAN. **Invited review: Current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow.** J. Dairy Sci. 97:4000–4017. 2014. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7392>.
- ARSHAD, U. *et al.* **Meta-analysis of the effects of supplemental rumen-protected choline during the transition period on performance and health of parous dairy cows.** J. Dairy Sci. 103:282–300. 2020. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16842>.
- BACH, A., S. CALSAMIGLIA, AND M. D. STERN. **Nitrogen metabolism in the rumen.** J. Dairy Sci. 88(Suppl 1):E9–E21. 2005. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73133-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73133-7).
- BARDIN, L. 2011. **Análise de conteúdo.** Lisboa: Edições 70.
- BRITO, L. F. *et al.* **Genetic mechanisms underlying feed utilization and implementation of genomic selection for improved feed efficiency in dairy cattle.** Can. J. Anim. Sci. 100:587–604. 2020. <https://doi.org/10.1139/cjas-2019-0193>.
- BRYMAN, A. **Social Research Methods.** Oxford University Press. 2012.
- BRYMAN, A. **Social Research Methods.** Oxford University Press. 2016.
- CALSAMIGLIA, S. *et al.* Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. Animal 4:1184–1196. 2010. doi:10.1017/S1751731110000911.

CARAVIELLO, D. Z. *et al.* **Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms.** J. Dairy Sci. 89:4723–4735. 2006. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72522-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72522-X).

CARDOSO, FABIANA F. *et al.* **Effect of protein level and methionine supplementation on dairy cows during the transition period.** 2021. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19181>.

CARNEIRO, J. H. *et al.* **Evaluation of the NASEM milk protein yield prediction model with data from Brazilian commercial farms.** J. Dairy Sci. 2024. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2024-0636>.

CASTILLO, A.R. *et al.* **A review of efficiency of nitrogen utilisation in lactating dairy cows and its relationship with environmental pollution.** J. Anim. Feed Sci. 2000;9(1):1-32, 2000. DOI: <https://doi.org/10.22358/jafs/68025/2000>.

CASTRO, J. J. *et al.* **Development of a model describing regulation of casein synthesis by the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in response to insulin, amino acids, and acetate.** J. Dairy Sci. 99:6714–6736. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10591>.

CHASE, L. E., R. J. HIGGS, AND M. E. VAN AMBURGH. **Feeding low crude protein rations to dairy cows—What have we learned?** Pages 32–42 in Proc. 23rd Ruminant Nutrition Symp. University of Florida, Gainesville, FL. 2012.

CRESWELL, J. W. **Research design: Qualitative, quantitative, and mixed methods approaches** (4th ed.). Thousand Oaks, CA: SAGE Publications.2014.

CRESWELL, JOHN W. **Research design: Qualitative, quantitative, and mixed method approaches I** by John W. Creswell.- 2nd ed. 2003.

DANES, M. A. C. *et al.* **Post-ruminal supplies of glucose and casein, but not acetate, stimulate milk protein synthesis in dairy cows through differential effects on mammary metabolism.** J. Dairy Sci. 103:6218–6232. 2020. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18086>.

DANES, M. A. *et al.* **Nutrição proteica de vacas leiteiras: podemos trabalhar com menos proteína?** In: Polyanna Pizzi Rotta. (Org.). Simpósio Internacional de Bovinocultura Leiteira - Anais. 1ed.Visconde do Rio Branco: Suprema, v. 1, p. 158-185.2023a.

DANES, M.A.C. *et al.* **Effects of Amount and Profile of Amino Acids Supply on Lactation Performance, Mammary Gland Metabolism, and Nitrogen Efficiency in Holstein Dairy Cows.** *Animals* 2023b, 13, 1866. <https://doi.org/10.3390/ani13111866>.

DANES, M.A.C. *et al.* **Lipogenic gene network expression in mammary tissue in response to abomasal infusion of casein, glucose, and acetate into feed-restricted lactating cows.** *Journal of Animal Science*, Volume 94, Issue suppl. Salt Lake City, UT, p 736. 2016. DOI:10.2527/jam2016-1516.

DEBORTOLI, E. C. *et al.* **Meat sheep farming systems according to economic and productive indicators: A case study in Southern Brazil.** *Revista Brasileira de Zootecnia* 50:e20200216. <https://doi.org/10.37496/rbz5020200216>.

DILLMAN, D. A., SMYTH, J. D., & CHRISTIAN, L. M. **Internet, Phone, Mail, and Mixed-Mode Surveys: The Tailored Design Method.** Wiley. 2014.

DOSKA, M. C. *et al.* **Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows.** *R. Bras. Zootec.*, v.41, n.3, p.692-697, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000300032>.

DUBENSKE, L. L. *et al.* **CHESS improves cancer caregivers' burden and mood: Results of and Health RCT.** *Health Psychology*, 33, 1261–1272. 2014. <http://dx.doi.org/10.1037/a0034216>.

EGGLESTON, S. *et al.* **Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories; Institute for Global Environmental Strategies.** Hayama, Japan, 2006; Volume 5.

FADUL-PACHECO, L. *et al.* **Addressing Data Bottlenecks in the Dairy Farm Industry.** *Animals*. 2022, 12, 721. 2012. <https://doi.org/10.3390/ani12060721>.

FIRKINS JL. *et al.* **Integration of ruminal metabolism in dairy cattle.** *J. Dairy Sci.* 89(E. Suppl.):E31–E51. 2006.[https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72362-1](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72362-1).

Fleming, A. J. *et al.* **Predictions of ruminal outflow of essential amino acids in dairy cattle.** *J. Dairy Sci.* 102:10947–10963. 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16301>.

FLICK, U. **Introdução à pesquisa qualitativa** (3a ed., J. E. Costa, Trad.). São Paulo: Artmed. 2009.

FOWLER, F. J. **Survey Research Methods.** *SAGE Publications*. 2013.

FOX, D. *et al.* **The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion.** *Anim. Feed Sci. Technol.* 112:29–78. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.10.006>.

FULWIDER, W. K. *et al.* **Survey of dairy management practices on one hundred thirteen north central and northeastern United States dairies.** *J. Dairy Sci.* 91:1686–1692. 2008. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0631>.

GIALLONGO, F. *et al.* **Effects of rumen-protected methionine, lysine, and histidine on lactation performance of dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 99:4437–4452. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10822>.

GREENACRE, M. **From simple to multiple correspondence analysis.** In M. Greenacre, & J. Blasius (Eds.), *Multiple correspondence analysis and related methods* (pp. 41–76). London: Chapman & Hall. 2006. DOI: 10.1201/9781420011319.ch2.

HANIGAN, M. D. *et al.* **A meta-analysis of the relationship between milk protein production and absorbed amino acids and digested energy in dairy cattle.** *J. Dairy Sci.* 107:5587–5615. 2024. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24230>.

HANIGAN, M. D. *et al.* **Predicting ruminally undegraded and microbial protein flows from the rumen.** *J. Dairy Sci.* 104:8685–8707. 2021. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19672>.

HARRISON, J. *et al.* **Case Study: National survey of barriers related to precision phosphorus feeding.** *Anim. Sci.* 28:564–568. 2012. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30406-X](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30406-X).

HARRISON, B. P. *et al.* **Phosphorus feeding practices, barriers to and motivators for minimising phosphorus feeding to dairy cows in diverse dairy farming systems.** *International journal of animal biosciences.* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100248>.

HEUWIESER, W. *et al.* **Short communication: survey of fresh cow management practices of dairy cattle on small and large commercial farms.** *J. Dairy Sci.* 93: 1065–1068. 2009. doi:10.3168/jds.2009-2783.

HOF, G. *et al.* **Milk Urea Nitrogen as a Tool to Monitor the Protein Nutrition of Dairy Cows.** *J. Dairy Sci.* 1997, 80, 3333–3340.

HRISTOV, A. N. *et al.* **Effect of dietary crude protein level and degradability on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows.** J. Anim. Sci. 82:3219–3229. 2004. <https://doi.org/10.2527/2004.82113219x>.

HUHTANEN, P. *et al.* **Evaluation of between-cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows.** J. Dairy Sci. 2015, 98, 3182–3196. 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8215>.

IPHARRAGUERRE, IR and CLARK JH. **A meta-analysis of ruminal outflow of nitrogen fractions in dairy cows.** Adv. Dairy Res. 2014. 2:122.

JOHNNY SALDAÑA. **Fundamentals of Qualitative Research.** Oxford University Press, Inc. 2011.

KIM, C.H.; CHOUNG, J.J.; CHAMBERLAIN, D.G. **Variability in the ranking of the three most-limiting amino acids for milk protein production in dairy cows consuming grass silage and a cereal-based supplement containing feather meal.** J. Sci. Food Agric. 80, 1386–1392. 2000.

KIM, J.-E. and LEE, H.-G. **Amino Acids Supplementation for the Milk and Milk Protein Production of Dairy Cows.** Animals.1, 2118. 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11072118>.

LAPIERRE, H. and G. E. LOBLEY. **Nitrogen Recycling in the Ruminant: A Review.** J. Dairy Sci. 84(E. Suppl.):E223-E236. 2001. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70222-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70222-6).

LAPIERRE, H. *et al.* **Amino acid requirements for lactating dairy cows: Reconciling predictive models and biology.** Pages 39–60 in Proc. Cornell Nutr. Conf. Dept. Anim. Sci. Cornell Univ., Ithaca, NY. 2007.

LAPIERRE, H. *et al.* **Review: Impact of protein and energy supply on the fate of amino acids from absorption to milk protein in dairy cows.** Animal 14:s87–s102. 2020. <https://doi.org/10.1017/S1751731119003173>.

LAVERY, A. END FERRIS, C.P. **Proxy Measures and Novel Strategies for Estimating Nitrogen Utilisation Efficiency in Dairy Cattle.** Animals. 11, 343. 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11020343>.

LEE, C. **Effect of dietary protein level and rumen-protected amino acid supplementation on amino acid utilization for milk protein in lactating dairy cows.** J. Dairy Sci., 98 pp. 1885-1902. 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8496>.

LEE, C. *et al.* **Effects of metabolizable protein supply and amino acid supplementation on nitrogen utilization, milk production, and ammonia emissions from manure in dairy cows.** J. Dairy Sci. 95 :5253–5268. 2012. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5366>.

LI, M. M., E. C. TITGEMEYER, and M. D. HANIGAN. **A revised rep resentation of urea and ammonia nitrogen recycling and use in the Molly cow model.** J. Dairy Sci. 102:5109–5129. 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15947>.

LI, S. *et al.* **Essential amino acid ratios and mTOR affect lipogenic gene networks and miRNA expression in bovine mammary epithelial cells.** Journal of animal science and biotechnology. 7, 44. 2016. DOI 10.1186/s40104-016-0104-x.

MALHOTRA, N. K. **Questionnaire design and scale development. The handbook of marketing research: Uses, misuses, and future advances**, 83-94. 2006.

MAYMONE MBC. *et al.* **Research Techniques Made Simple: Web-Based Survey Research in Dermatology: Conduct and Applications.** J Invest Dermatol138(7):1456-1462. 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.02.032>.

MÉLISSA DUPLESSIS, TOM C. WRIGHT, and MASOUMEH BEJAEI. **A survey of Canadian dairy nutritionists to assess current trace element formulation practices.** J. Dairy Sci. 106:4030–4041. 2023. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22943>.

MICHAEL QUINN PATTON. **Qualitative research & evaluation methods: Integrating theory and practice.** 2014.

Millen, D. D *et al.* **A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil.** 2009.J. Anim. Sci. 2009. 87:3427–3439 <https://doi.org/10.2527/jas.2009-1880>.

MILLEN, D.D. *et al.* **A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil.** J. Anim. Sci. 87: 3427–3439. 2009. doi:10.2527/jas.2009-1880. PMID:19574564.

MOTTET, A. *et al.* Review: **Domestic herbivores and food security: Current contribution, trends and challenges for a sustainable development.** *Animal*. 12:S2, pp s188–s198. 2018. doi:10.1017/S1751731118002215.

NICHOLS, K. *et al.* **Exogenous essential amino acids stimulate an adaptive unfolded protein response in the mammary glands of lactating cows.** *J. Dairy Sci.* 100:5909–5921. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12387>.

NRC. 1978. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** 5th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

OLMOS COLMENERO, J. J. and G. A. BRODERICK. **Effect of Dietary Crude Protein Concentration on Milk Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows.** *J. Dairy Sci.* 89:1704–1712 © American Dairy Science Association, 2006. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72238-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72238-X).

PHIPPS, A.J. *et al.* **Survey of bovine colostrum quality and hygiene on northern Victorian dairy farms.** *J. Dairy Sci.* 99: 8981–8990. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11200>.

PONTO, J. *et al.* **Understanding and Evaluating Survey Research.** 2015.

REYNOLDS, C. K., and N. B. KRISTENSEN. **Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: An asyn chronous symbiosis.** *J. Anim. Sci.* 86(Suppl 14):E293–E305. 2008. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0475>.

RIUS, A. G. *et al.* **Regulation of protein synthesis in mammary glands of lactating dairy cows by starch and amino acids.** *J. Dairy Sci.* 93:3114–3127. 2010. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2743>.

RØJEN, B. A., P. K. THEIL, AND N. B. KRISTENSEN. **Effects of nitrogen supply on inter-organ fluxes of urea-N and renal urea-N kinetics in lactating Holstein cows.** *J. Dairy Sci.* 94:2532–2544. 2011. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3949>.

ROOPA, S. and RANI, M. S. **Questionnaire Designing for a Survey.** *J Ind Orthod Soc*;46(4):273-277. 2012.

ROTTA, P.P. *et al.* **Exigências de proteína para bovinos de corte.** In: BR-Corte. 3. ed., Viçosa: UFV, DZO, cap.8, p.191-220. 2016.

SAJEEV, E.P.M. *et al.* **Evaluating the potential of dietary crude protein manipulation in reducing ammonia emissions from cattle and pig manure: A meta-analysis.** *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 110, 161–175. 2018. <https://doi.org/10.1007/s10705-017-9893-3>.

SAMUELSON, K.L. *et al.* 2016. **Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey.** *J. Anim. Sci.* 94: 2648–2663. <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0282>.

SATTER, L.D. and SLYTER, L.L. **Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro.** *Br. J. Nutr.* 1974, 32, 199–208. DOI: [10.1079/bjn19740073](https://doi.org/10.1079/bjn19740073).

SAXTON, R. A. *et al.* **Structural basis for leucine sensing by the Sestrin2-mTORC1 pathway.** *Science* 351:53–58. 2016. <https://doi.org/10.1126/science.aad2087>.

SILVESTRE, A. M. and MILLEN, D. D. 2021. **The 2019 Brazilian survey on nutritional practices provided by feedlot cattle consulting nutritionists.** *Revista Brasileira de Zootecnia* 50: e20200189. 2019. <https://doi.org/10.37496/rbz5020200189>.

STORM, E., and E. R. ØRSKOV. **The nutritive value of rumen microorganisms in ruminant. 1. Large-scale isolation and chemical composition of rumen microorganisms.** *Br. J. Nutr.* 50:463470. *J. Dairy Sci.* 88:(E. Suppl.): E9–E21. 1983. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73133-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73133-7).

TITZE, N. *et al.* **Linkage of in situ ruminal degradation of crude protein with ruminal degradation of amino acids and phytate from different soybean meals in dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 107:2011–2025. 2024. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23587>.

TOERIEN, C. A., D. R. TROUT, and J. P. CANT. 2010. **Nutritional stimulation of milk protein yield of cows is associated with changes in phosphorylation of mammary eukaryotic initiation factor 2 and ribosomal s6 kinase 1.** *J. Nutr.* 140:285–292. 2010. <https://doi.org/10.3945/jn.109.114033>.

Toledo MZ. *et al.* **Effect of feeding rumen-protected methionine on productive and reproductive performance of dairy cows.** *PLoS ONE* 12(12): e0189117. 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189117>.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant.** Cornell University Press, Ithaca, NY. Page 261 1994.

VASCONCELOS, J. T., and M. L. GALYEAN. **Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2007 Texas Tech University survey.** J. Anim. Sci. 85:2772–2781. 2007. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0261>.

VASSEUR, E. *et al.* **Survey of dairy calf management practices in Canada that affect animal welfare.** J. Dairy Sci. W93: 1307–1316. 2010. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2429>.

Wei, C.; He, T.; Wan, X.; Liu, S.; Dong, Y.; Qu, Y. **Meta-Analysis of Rumen-Protected Methionine in Milk Production and Composition of Dairy Cows.** Animals 2022, 12, 1505. <https://doi.org/10.3390/ani12121505>.

Weigel, K. A., and K. A. Barlass. **Results of a producer survey regarding crossbreeding on US dairy farms.** J. Dairy Sci. 86:4148–4154. 2003.

XIAOSHI WEI. *et al.* **Rumen-protected lysine supplementation improved amino acid balance, nitrogen utilization and altered hindgut microbiota of dairy cows.** Animal Nutrition. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.08.001>.

DER, P. S. *et al.* **Effects of jugular infused methionine, lysine, and histidine as a group or leucine and isoleucine as a group on production and metabolism in lactating dairy cows.** J. Dairy Sci. 103:2387–2404. 2019. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17082>.

**Survey on Protein Nutrition of Lactating Cows with Brazilian Nutritionists**

Yolanda Fernanda Ant3nio Joel Mapanzene<sup>1</sup> and Marina de Arruda Camargo Danes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal University of Lavras, Department of Animal Science, Graduate Program in Animal  
Science

Corresponding author: [marina.danes@ufla.br](mailto:marina.danes@ufla.br)

## **ABSTRACT**

Protein fulfills a multifactorial role in the nutrition of dairy cows, being necessary to meet various physiological and metabolic demands, ensuring an adequate supply so that animals achieve better health and performance responses. The objective of this study was to describe the practices adopted by Brazilian nutritionists regarding the protein nutrition of lactating cows. The research was conducted through an online questionnaire on the Google Forms platform, consisting of 36 questions directed at nutritionists working on dairy farms in Brazil. Descriptive statistics were performed for all numerical variables. Open-ended questions were summarized and grouped into categories based on content similarity. The responses were counted using the "COUNTIF" function in Excel. A cluster analysis was performed according to the cows' production level, generating three analysis groups. A total of 56 nutritionists responded to the questionnaire between June and October 2024, covering 3,008 clients and an average of 83 lactating cows per farm across 17 Brazilian states, with an average milk production of 27.8 kg/cow/day. The NASEM (2021) model was described as the primary tool used by nutritionists in diet formulation for lactating cows. Nutritionists reported several challenges in balancing protein in animal diets, with the main ones being high costs and the lack of diversity in protein ingredients. Crude protein was described as the primary metric for protein balancing by 25% of respondents. Most nutritionists reported changes in their protein recommendations for lactating cows over the past three years. Additionally, bulk tank milk urea nitrogen was described as the main tool used by nutritionists to assess protein adequacy in dairy cow diets. Conventional soybean meal was mentioned by all nutritionists as a commonly included ingredient in lactating cow diets, and the main criterion for ingredient selection was the cost per unit of crude protein. Furthermore, many nutritionists expressed concerns about the future regulation of nitrogen excretion by dairy farms. However, many nutritionists still do not adopt the NASEM 2021 model for diet formulation, and despite changes in protein recommendations, they continue to use outdated metrics for protein balancing.

**Keywords:** dairy cow; nutritionists; NASEM; protein balancing; survey.

## INTRODUCTION

The formulation of diets for lactating cows is a fundamental aspect of optimizing milk production, ensuring health, and improving the efficiency of the production system. It is determined by the animal's nutritional requirements, the composition of the available feedstuffs, and the interaction between nutrients. The use of evaluation systems that integrate these factors is essential to ensure proper balancing, allowing for the optimization of feed efficiency and productive performance (NRC, 2001; Schwab and Broderick, 2017).

Conversely the progress in protein nutrition for dairy cows is essential due to the need to minimize the environmental impact generated by milk production (Schwab and Broderick, 2017; Lapierre et al., 2020) while optimizing productive efficiency through the efficient use of nitrogen (N) and amino acids (AA) and improved economic performance (Arriola Apelo et al., 2014). Furthermore, protein supply deserves attention due to the high variability in response to different sources of nitrogenous compounds, as well as its high cost within the animal nutrition system (Arriola Apelo et al., 2014; NASEM, 2021).

The most consistent strategy to improve nitrogen use efficiency (NUE: N secreted in milk divided by consumed dietary N) is by reducing dietary crude protein (CP) content (Olmos Colmenero & Broderick, 2006; Huhtanen & Hristov, 2009; Danes et al., 2013). This suggests that simply reducing dietary protein is not enough; it is also crucial to ensure the supply of essential amino acids. Moreover, protein deficiency in the diet, especially rumen degraded protein (RDP) can cause rumen fill, reduce feed intake, and decrease milk and milk protein production (Giallongo et al., 2016).

Therefore, understanding nitrogen metabolism in the rumen and the utilization of amino acids by the tissues are key elements that must be considered to advance protein nutrition and ensure better productivity and longevity outcomes for cattle (Danes et al., 2023a), as well as improving the economic viability of dairy operations and reducing environmental impact through decreased N excretion (Arriola Apelo et al., 2014).

The 2021 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM) model brought significant advances in the protein sub model. For instance, microbial protein synthesis is now estimated from RDP and rumen degraded starch and NDF in the same equation, rather than total digestible nutrients (TDN) in the previous version. Additionally,

instead of estimating milk protein yield as a linear function of metabolizable protein supply, the new model evaluates the milk protein response based on the supply of specific amino acids and energy, with amino acid balance focused on optimizing the efficiency of amino acid utilization. This model has introduced significant changes to the protein model, incorporating new approaches to protein nutrition, particularly regarding efficiency, nutrient interactions, and the balancing of essential amino acids. However, little is known about the adoption of these new guidelines on dairy farms in Brazil, which may lead to controversies and deeper discussions on protein nutrition due to the lack of knowledge about the methodologies used by field nutritionists.

The literature lacks information on how nutritionists make decisions related to protein balancing, which metrics they use, and the challenges they face when formulating diets for dairy cows. In Brazil, in particular, there are no records of studies that have specifically addressed the practices adopted by nutritionists in balancing protein in the feeding of lactating cows. Therefore, this study aims to fill this void by providing an unprecedented overview of the nutritional strategies employed, the main challenges reported, and the level of adoption of updated nutritional models. Thus, this research offers a current perspective on protein nutrition for lactating cows in Brazil, aiming to identify potential issues in decision-making processes and diet formulation. In this context, the objective of this research was to describe the practices adopted by nutritionists working on dairy farms concerning protein nutrition for lactating cows.

## **MATERIALS AND METHODS**

The data collection was carried out through an online survey applied using the “Google Forms” platform, and the study was previously approved by the Research Ethics Committee with Human Subjects (COEP/UFLA) under registration number 6.924.963. The questionnaire was first validated by four nutritionists with more than ten years of experience in dairy cow nutrition. The objective was to allow for the revision of the questions, improve clarity, and enhance the ability to extract precise information from participants, as well as to estimate the time required to complete the survey. These nutritionists received invitations via email containing a clear request regarding their interest in collaborating with the study. After confirming their participation, a link containing the questionnaire was sent to them. Along with the link, a brief description of the research was provided, highlighting its objective, and they were asked to complete the form as soon as possible.

After validation, the survey was directed at the target group, consisting of nutritionists responsible for formulating diets on dairy farms. A non-probabilistic convenience sampling method was used, in which an intentional selection was made (only nutritionists from dairy farms were included). Various methods were employed to invite the target audience to participate in the research, including emails (provided by participants of the III National Symposium UFLA (SINPEL), held in June 2023). Additionally, the invitation was widely disseminated on platforms specialized in publishing information related to the dairy market in Brazil, such as the *MilkPoint* website, as well as on social media platforms like *Instagram*, *LinkedIn*, and *WhatsApp*. In addition, an invitation was extended to participants of the Brazilian Society of Animal Science (SBZ) meeting, held in August 2024 in Cuiabá, Mato Grosso.

The survey consisted of a total of 36 consecutive multiple-choice and open-ended questions, organized into six main categories: 1) demographics, 2) diet formulation, 3) feedstuffs, 4) challenges, 5) updates, and 6) future perspectives. The final question allowed for additional comments, enabling participants to address topics not covered in the previous questions; however, it was not included in the analysis, just as the first question, which asked whether the participant was a nutritionist working on dairy farms. All questions in the survey were mandatory, meaning that respondents could not proceed with the next question without answering the previous one.

The "Demographics" section included nine questions aimed at characterizing the profile of the respondents and their clients. The "Formulation" section consisted of thirteen questions designed to understand how nutritionists make decisions when formulating diets for dairy cows. The "Feedstuffs" section comprised five questions aimed at identifying the protein ingredients included in the cow's diets. For the "Challenges" section, two questions were included. The "Updates" section consisted of three questions. Finally, the "Future" section contained two questions focused on understanding the nutritionist's perspectives.

One of the questions in the "Formulation" section asked respondents to indicate which models they use to formulate diets for lactating cows. The options included NASEM 2021, the most recent edition of the nutritional requirements system for dairy cattle, which succeeded NRC 2001; AMTS, a diet formulation software for dairy cattle based on previous versions of the NRC; RLM, a Brazilian diet formulation software for ruminants, serving as an alternative to AMTS and CNCPS; UFLA Spreadsheet, a tool developed by Professor Marcos

Neves Pereira, used for dairy cattle diet formulation in Brazil, based on NRC 2001 and updated with concepts from NASEM 2021; and Other Excel spreadsheet, customized spreadsheets based on NRC and CNCPS equations, which may be developed by companies or consultants, adapted to local conditions, and incorporating specific digestibility data and ingredient costs.

The survey was available from June to October 2024, totaling 18 weeks. Before giving access to the questions, the opening page of the questionnaire presented the Informed Consent Form (ICF), which included detailed information about the research objectives, response confidentiality, and participant rights. At the end of the ICF, participants had to select one of the available options to indicate their agreement to participate in the study. Only after giving their consent did they gain access to the questionnaire. The ICF was also made available to participants through a download link, and anonymity was ensured.

The first question of the questionnaire asked participants to confirm whether they met the eligibility criteria for participation, meaning whether they formulated diets for dairy farms in Brazil. The exclusion criterion was applied to respondents who identified themselves as not being nutritionists responsible for formulating diets for lactating cows by selecting the option "no" in the questionnaire. These respondents were automatically redirected to the final thank-you page of the survey without access to subsequent questions. At the end of the questionnaire availability period, 64 individuals expressed interest in responding. However, 56 met the established criteria for participation in this study as nutritionists of dairy farms.

## **Data Analysis**

The data collected during the research were exported from the Google Forms platform to an Excel spreadsheet (Microsoft, USA, 2019), where they were organized and analyzed individually. Irrelevant or unrelated responses were discarded. The means, median, minimum value, and maximum value were calculated for all numerical variables. When necessary, responses were summarized and grouped into categories based on the similarity of the content, with the goal of facilitating data interpretation and identifying trends, priorities, and points of interest among the participants.

Of the 22 multiple-choice questions, six allowed multiple selections, enabling respondents to choose more than one option. For these questions, the frequency of each alternative was counted using the “COUNTIF” function in Excel, which identified the number of occurrences of each response within the dataset. The results were expressed both in absolute values and percentages, considering the total number of responses recorded for each question. For single-selection questions, the frequency of each alternative was also counted in the same way. Additionally, the geographic distribution of clients served by the participants was visually represented on a map of Brazil, making it easier to evaluate the representativeness of the data. The analysis of demographic information provided a comprehensive view of the sample, allowing for the quantification of common practices and motivations among the participants.

The average milk production level of the cows served by the nutritionists was used as the criteria for cluster analysis was performed in Excel (Microsoft, USA, 2019), resulting in the formation of three groups: A, B, and C, with an  $R^2$  of 0.8, indicating that 80% of the total variance can be explained by the group structure.

The comparison between the groups was conducted using the G-Test, an alternative to the chi-square test, which is based on the likelihood ratio to assess discrepancies between observed and expected frequencies. This test was chosen due to the different sample sizes between the clusters, allowing for a more sensitive analysis of the distribution differences. For numerical variables, an analysis of variance (ANOVA) was performed at a 5% significance level.

## **RESULTS**

### **General Demographic Information**

Fifty-six nutritionists responded to the survey between June and October 2024. Of the 56 participants, 46% are veterinarians, 41% are animal scientists, 7% are agronomists, 4% are agricultural technicians, and 2% are animal science technicians (Figure 1). The participants reside in 10 states of Brazil, with the highest concentration in Minas Gerais (41%), followed by Rio Grande do Sul (20%), Paraná (16%), Goiás (9%), Santa Catarina (7%), and 2% each from the states of Ceará, Maranhão, Rio de Janeiro, and São Paulo.

The cluster analysis, resulted in 3 groups. Group A showed the highest average milk production of 34.9 kg/day (n = 18), followed by group B with 28.3 kg/day (n = 23), while group C had the lowest average of 19.5 kg/day (n = 15). For the AMTS model, a trend was observed among the groups (P = 0.09), with less adoption in group C (5.9%) and higher adoption in group A (27.3%). For the other models, no statistical differences were found among the groups, indicating similar perceptions among them.

The participants are nutritionists with experience ranging from 1 to 37 years, with the number of clients served varying from 3 (minimum) to 130 (maximum), totaling 3,008 clients. Additionally, the nutritionists are responsible for a total of 25,097 lactating cows in the states they serve, with an average milk production of 27.8 kg/cow/day (Table 1). The distribution of states where the nutritionists reported serving clients is shown on the map of Brazil (Figure 2) covering a total of 16 states, with the highest concentration in Minas Gerais (44.6%), followed by Rio Grande do Sul (28.6%), Paraná (25%), Goiás (19.6%), Santa Catarina (19.6%), São Paulo (16.1%), Ceará, Sergipe, and Rio de Janeiro (5.4% for each of these states), Bahia (3.6%), Alagoas, Espírito Santo, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Pernambuco, and Piauí (1.8% for each of these states). Some nutritionists (5.4%) also formulate diets outside Brazil. The percentage exceeds 100 because each nutritionist formulates diets for more than one state.

## **Diet Formulation**

### ***Formulation Models***

In the question about formulation models, respondents were able to select more than one option according to the models they use (Table 2). Overall, the NASEM (2021) model was mentioned by 31.4% of the nutritionists, another Excel spreadsheet was selected by 28.6% of participants. The RLM model is adopted by 15.7% of respondents, similarly, the AMTS model was chosen by 12.9% of nutritionists. Lastly, the UFLA spreadsheet, developed by Professor Marcos Neves Pereira, was selected by 11.4% of participants.

When asked about their justification for choosing the tool, 49 responses were analyzed (n=49). Among the respondents, 40.8% indicated that ease of use was a determining factor, similarly, 30.6% justified their choice based on their domain with the tool,

additionally, 38.8% considered the selected models more suitable for practice and only 14.3% pointed to better biology as their justification. Finally, regarding financial accessibility, 18.4% considered the tool(s) affordable.

### **Protein balancing metrics**

Table 3 presents the protein balancing metrics according to the priorities set by nutritionists. The CP was identified as the primary metric by 25.0% of all participants, with no significant differences between groups ( $P = 0.79$ ). Other metrics, such as RDP, metabolizable protein allowable milk (MP allowable milk), and metabolizable protein (MP), were more frequently referenced as the second most important metric, selected by 17.9% of respondents for each other. The efficiency of AA utilization ranked lowest among the metrics considered when formulating lactating cow diets on dairy farms. Notably, the MP allowable milk metric was absent in group B, resulting in a significant difference ( $P = 0.02$ ). However, no metric showed significant differences when ranked as the top priority.

The nutritionists were asked about changes in protein recommendations over the past three years (Table 4). Overall, 76.8% of the respondents reported changes in recommendations. In group B, the changes were unanimous (100.0%), with a statistical trend indicating differences between groups ( $P = 0.09$ ). Regarding the frequency of diet evaluation and adjustments on the farms served, most of the nutritionists (62.5%) reported making adjustments monthly, with no statistical differences between the groups ( $P = 0.62$ ). However, 10.7% of the respondents reported making adjustments biweekly, a practice that was more prevalent in group C and nonexistent in group B, resulting in a significant difference between the groups ( $P = 0.02$ ). Additionally, participants were asked about the evaluation of the relationship between metabolizable protein and metabolizable energy (MP/ME). Half of the respondents indicated they evaluate this relationship, with greater observance in group A (61.1%) and lower adherence in group C (33.3%), but no statistical differences were observed ( $P = 0.50$ ).

Additionally, the participants were asked to report how they assess, in practice, whether the diet is adequately balanced in protein. The primary tool used was the analysis of milk urea nitrogen (MUN) from the bulk tank, mentioned by 87.5% of respondents (Table 5). The second most adopted method was bromatological analysis, cited by 78.6% of participants, with no statistically significant difference between groups ( $P=0.95$ ). The

evaluation of individual cow MUN was reported by 35.7% of nutritionists. Other methods included analyzing bulk tank milk protein content (62.5%), observing feed intake (51.8%), fecal scoring (62.5%), and analyzing individual cow milk protein content (25.0%). Only 3.6% mentioned other methods for this assessment.

## Challenges in Balancing Protein in Diets

The high cost of ingredients was identified as the primary challenge faced by nutritionists, reported by 45.3% of respondents. Additionally, the lack of availability of protein ingredients was highlighted as a significant difficulty (37.7%). Furthermore, 20.8% of respondents mentioned the absence of precise feed analyses as an obstacle in protein balancing. Another relevant challenge cited by 17.0% of respondents was the difficulty in balancing the AA. Additionally, 13.2% of nutritionists pointed out specific difficulties related to formulation models, such as NASEM (2021). The main limitations mentioned include challenges in adjusting key metrics such as RDP, RUP, AA and MP.

### Protein Ingredients

The results regarding the use of protein ingredients in dairy cow nutrition are presented in Table 6. Conventional soybean meal was used by 100.0% of the nutritionists across all groups. Cottonseed also showed widespread adoption (87.5%), with higher use in Group A (94.4%) and lower in Group C (73.3%), with no significant difference between groups ( $P = 0.78$ ). Urea was employed by 80.4% of respondents, with similar values among groups A (77.8%), B (82.6%), and C (80.0%) ( $P = 0.99$ ). Among ingredients with a higher proportion of RUP, DDGS was used by 58.9% of respondents, being more frequent in Groups A (66.7%) and B (73.9%), while only 26.7% of Group C reported its use ( $P = 0.12$ ). A trend was observed for high-RUP soybean meal, used by 51.8% of respondents, with higher incidence in Groups A (61.1%) and B (65.2%) and lower in Group C (20.0%) ( $P = 0.09$ ). Canola meal showed a significant difference between groups ( $P = 0.03$ ), being more used in Group B (30.4%) and absent in Group C. Ingredients such as whole soybeans, sunflower meal, and brewer's yeast had low overall adoption (1.8%, 0%, and 5.4%, respectively) and showed no difference between groups. The supplementation of rumen-protected methionine and lysine showed a different usage profile. Methionine varied between groups ( $P = 0.01$ ), with the highest use in Group A (66.7%), followed by Group B (17.4%) and Group C (13.3%). Lysine had low adoption across groups (average of 11.0%;  $P = 0.91$ ).

### Protein Ingredient Selection Criteria

Nutritionists were asked about the main criterion for selecting protein ingredients (Table 7). Overall, 58.9% reported considering the cost per unit of CP as the primary factor. Among the groups, this percentage ranged from 66.7% (Group A) to 53.3% (Group C), but

no significant difference was observed between groups ( $P = 0.87$ ). The cost per unit of RUP was selected by 7.1% of respondents, with no professionals from Group B choosing this criterion ( $P = 0.12$ ). Meanwhile, the cost per unit of digestible RUP was mentioned by 3.6% of participants ( $P = 0.53$ ). No respondents considered the cost per unit of an individual AA as a deciding factor. The cost based on the best combination of AA to optimize their efficiency was cited by 19.6% of respondents, with Group B showing the highest use of this criterion (30.4%) and Group A the lowest (11.1%,  $P = 0.32$ ). Finally, 10.7% of respondents mentioned using another metric, with no significant differences between groups ( $P = 0.93$ ).

When asked about the main limitation for diversifying protein ingredients, the most frequently cited reason was the difficulty in finding diversity in the regions of operation, mentioned by 41.1% of respondents (Table 8). The variation between groups ranged from 34.8% (Group B) to 53.3% (Group C) ( $P=0.69$ ). Storage difficulties were the second most cited factor (21.4%), with a significant difference between groups ( $P=0.02$ ), with Group B reporting this challenge the most (34.8%) and Group C not mentioning it. The seasonality of ingredients was reported by 8.9% of participants, with no statistical difference between the groups ( $P=0.76$ ). Other cited limitations included: lack of need to increase the number of ingredients (14.3%,  $P=0.79$ ), lack of adequate nutritional characterization (5.4%,  $P=0.95$ ), high cost (5.4%,  $P=0.19$ ), and lack of financial resources (3.6%,  $P=0.53$ ).

The table 9 shows the frequency with which participants conduct bromatological analyses of ingredients, the complete diet, and/or individual milk samples. No significant differences were observed between the groups in any of the evaluated categories. Regarding monthly analyses, the evaluation of forages and individual milk samples was mentioned by 46.4% and 42.9% of participants, respectively. For protein concentrates, by-products, and the total mixed ration (TMR), the most commonly adopted frequency was three to four times per year, chosen by 53.6%, 46.4%, and 46.4% of participants, respectively.

## **Update**

Nutritionists identified scientific articles as their primary source of information for staying updated on best nutritional practices, with 78.0% in groups A and B, and an even higher adherence in group C at 87.0%. Additionally, 60.7% of all nutritionists attended at

least three courses in the past two years, whereas 7.1% participated in only one or none during this period (Table 10).

### **Nitrogen Excretions**

The nutritionists who participated in the survey were asked about the possibility of nitrogen excretion regulations being implemented on dairy farms in the next 5 to 10 years. The results reveal that 21.4% of respondents believe that such regulation could be implemented within this period, while 35.7% do not consider this possibility. The majority, representing 42.9% of the participants, expressed uncertainty about the adoption of future regulatory measures. These data reflect the diversity of perceptions within the sector, suggesting that despite growing concerns about the environmental impacts of livestock farming, there are still doubts about the feasibility and applicability of potential regulations.

## DISCUSSION

The number of participants in this study was lower than expected, despite the extensive dissemination of the survey link through social media, professional pages, and emails sent to more than 200 recipients, in addition to an invitation made during the SBZ meeting to more than 300 dairy nutritionists. One possible factor contributing to the low response rate was the length and complexity of the questionnaire, which took at least 30 minutes to complete. This may have led some participants to abandon the survey before finishing it, preventing their responses from being included in the analysis.

Despite this, the number of responses obtained in this study was higher than that reported in a previous study conducted with Brazilian dairy farm nutritionists by Silva et al. (2019). Similarly, the response rate exceeded that of a study involving feedlot cattle consultants (Silvestre & Millen, 2021). However, other similar studies with dairy farm nutritionists have reported a higher number of respondents (Harrison et al. 2012; Prestegaard-Wilson et al. 2021; Duplessis et al. 2023; Jorritsma et al., 2021). This number of responses was higher compared to some national studies but lower compared to international studies.

According to Fincham (2008), when the contact information of potential participants is available, response rates to questionnaires can be improved by implementing a combination of contact methods, such as emails, phone calls, personal approaches, or social media. Additionally, a reminder email was sent 15 days after the initial invitation, followed by a second reminder 45 days later. As stated by Dillman et al. (2014), increasing survey participation can be achieved by sending reminder emails.

This study aimed to reduce non-response bias by using pre-tested questions and making responses mandatory. However, some questions may not have been clear enough for respondents, potentially limiting a deeper exploration of their perceptions. This issue was observed in almost all open-ended questions. Additionally, it was not possible to determine the exact number of invitation sent by email due to various potential issues, such as full inboxes, messages being marked as spam, inactive accounts, or typos in email addresses. Survey email invitations are often perceived as spam, leading them to be immediately deleted or automatically filtered out. Similarly, an accurate response rate estimate could not be determined due to the challenges of calculating it on social media.

In this study, one of the parameters analyzed was demographic information, which helps to understand the profile of respondents and how regional or educational differences may influence practices, perceptions, and decision-making. However, differences in educational background, respondent states, and the location of the farms where they formulate diets did not impact decision-making for diet formulation. This suggests that, within this group of respondents, nutritionists share similar perceptions and trends. The study covered 17 Brazilian states, primarily in the South, Southeast, Midwest, and Northeast regions, with no respondents from the North. A similar pattern was observed in the *MilkPoint*, (2024). The highest concentration of clients was in the state of Minas Gerais, likely due to the fact that this state is the largest milk producer in Brazil. Similar results were reported by Silva et al. (2019).

### **Diet formulation**

NASEM (2021) model had the highest percentage of use compared to other models, with no significant differences between groups. However, despite this percentage, the results from the models showed that some nutritionists do not adopt this model. The low adoption rate is likely due to a lack of familiarity with its recommendations, especially given the significant changes it introduced in the protein sub model. The CP was predominantly selected as the primary metric used by nutritionists for protein nutrition in lactating cows. This preference may be attributed to its ease of measurement in laboratories and the fact that it has been widely used for decades as a reference for evaluating protein nutrition, making it easier for nutritionists to interpret results. However, some of the key metrics emphasized in NASEM (2021), such as milk protein yield based on individual AA balancing, were less commonly used.

Although most nutritionists reported implementing significant changes after the release of NASEM (2021), a trend of differences between groups was observed. Group B showed 100% adherence to the new recommendations, reflecting an evolution in knowledge and professional practice driven by the pursuit of greater production efficiency. Additionally, this group predominantly adopted the NASEM (2021) model, indicating a higher receptivity to nutritional updates. On the other hand, Group C, which consisted of farms with lower milk production per cow (19.5 kg/d), showed less adherence to changes in protein recommendations. This lower adoption rate may be associated with fewer dietary optimization strategies, which in turn may contribute to the lower productivity observed in

this group. This suggests that the implementation of new recommendations may be directly linked to the technological level of the farms. This lack of adoption of updated protein recommendations could help explain the lower milk yields, as these nutritionists are less likely to follow modern protein nutrition strategies.

On the other hand, regarding protein adequacy, the results indicate that Brazilian nutritionists prioritize laboratory methods to monitor dietary protein adequacy, ensuring greater precision in formulation. The widespread use of bulk tank MUN highlights its relevance as an indirect indicator of protein metabolism efficiency. However, the limited use of individual MUN and milk protein content from individual cows suggests a lower focus on animal-to-animal variation, possibly due to operational challenges or high costs.

### **Challenges in Balancing Protein in Diets**

The high cost of ingredients and limited diversity of protein sources were identified as the main challenges faced by nutritionists in balancing protein in dairy cow diets. This difficulty is justifiable, considering that protein ingredients are among the most expensive in commercial feeding systems (Kohn, 1998; Broderick *et al.*, 2013). Additionally, in recent years, there has been a price increase in soybean meal. On the other hand, the reliance on a few protein sources increases economic vulnerability, keeping costs consistently high, likely due to price fluctuations in the dairy sector resulting from market deregulation (Broderick *et al.*, 2013).

### **Protein Ingredients**

Formulating diets for dairy cattle must consider the level of medium of milk production, aiming to meet nutritional requirements efficiently and cost-effectively. The results of this study indicated that conventional soybean meal is widely used across all groups of cows, regardless of production level. Soybean meal has a high proportion of RDP, which supports microbial protein synthesis, in addition to a balanced AA profile and high intestinal digestibility. These factors contribute directly to milk production efficiency (Harper *et al.*, 2019; NASEM, 2021). Moreover, soybean is widely cultivated in various regions of Brazil, and soybean meal, as one of the main protein-rich coproducts, plays a key role in the diets of lactating cows (Silva *et al.*, 2019).

Cottonseed is an important protein source for dairy cows due to its nutritional composition, which combines protein, effective fiber, and fat. In this study, 87.5% of nutritionists reported using cottonseed, with higher prevalence in Group A (94.4%) and lower in Group C (73.3%). This difference may be related to the need for more energy-dense diets for higher-producing cows, as cottonseed has a high fat content, potentially exceeding 20% of dry matter. In addition to providing concentrated energy, its fiber supports rumen health and microbial protein synthesis (NASEM, 2021).

Urea was used by 80.4% of respondents, with no significant differences between groups, indicating that its inclusion is a common practice in dairy cow diet formulation, regardless of milk production levels. This high usage rate reflects the importance of urea as an economical and efficient source of RDP, essential for microbial protein synthesis in the rumen (Highstreet et al., 2010; Ma and Fasciola, 2024).

The inclusion of urea can partially replace costlier protein sources, provided that the ratio between rapidly fermentable carbohydrates and RUP is balanced to avoid ammonia excess in the rumen (NASEM, 2021). Among the by-pass protein sources, the trend suggests that farms with higher-producing cows prioritize ingredients that provide higher amounts of RUP, optimizing the supply of essential AA (EAA) for intestinal absorption and improving the efficiency of dietary protein utilization (Schwab and Broderick, 2017; Liebe et al., 2018). The NASEM (2021) emphasizes the provision of by-pass proteins, especially for high-producing cows, as they allow direct AA delivery to the small intestine. Moreover, the increasing search for genetically superior dairy cows, with higher feeding efficiency and productivity, drives the use of high RUP protein sources, ensuring that nutritional requirements are met without compromising milk production and composition (Brito et al., 2020). Furthermore, the inclusion of corn-ethanol co-products, such as DDG, in the diets can be a cost-effective alternative to reduce the dependency on soybean meal, without compromising cow productivity (Clark et al., 2024).

Canola meal was significantly more used in group B (30.4%), while its use was not reported in group C. This difference may be related to the cost-effectiveness of including canola meal in lower productivity systems, considering its nutritional composition and regional availability of the ingredient. In Brazil, canola is predominantly cultivated in the Southern region (De Mori et al., 2019), which could explain its higher use in group B of this study, primarily composed of producers from Rio Grande do Sul, Paraná, and Santa Catarina.

The proximity of producing areas reduces logistical costs, making canola meal a more accessible option for producers in this region. Furthermore, studies indicate that canola meal can partially or fully replace soybean meal in dairy cattle diets without compromising milk production, and in some cases, it may even improve feed efficiency (Broderick et al., 2015; Paula et al., 2020).

Rumen-protected methionine was another ingredient with significantly different usage among the groups, being more frequent in group A and less used by group C. This difference may be associated with the fact that farms with higher-producing cows tend to invest more in nutritional strategies to optimize milk production and milk protein synthesis. Methionine plays a fundamental role in the efficiency of protein metabolism (Cardoso et al., 2021). In addition to its effects on milk production, methionine is associated with various metabolic and physiological functions in cows. During the transition period, supplementation with protected methionine may improve oxidative status and reduce inflammation (Toledo et al., 2023). Under thermal stress conditions, methionine has shown positive effects on the regulation of inflammatory response and immune function (Davidson et al., 2023). Additionally, it plays a crucial role in nutrient metabolism (Potts et al., 2023).

On the other hand, ingredients such as soybean grain, sunflower meal, and brewer's yeast had low overall adoption, suggesting that their use may be limited by factors such as availability, cost, or lower nutritional efficiency compared to other protein sources. In the case of soybean grain, its adoption may be restricted by the release of anti-nutritional factors, such as trypsin inhibitors, which can compromise nutrient utilization by the animal (NASEM, 2021). Additionally, soybean grain contains a high oil content, which can negatively affect ruminal fermentation. Similarly, sunflower meal has a higher crude fiber content, which may reduce nutrient digestibility. Brewer's yeast may be less adopted by nutritionists due to the high variability in nutritional composition, depending on the industrial process and source (Oliveira et al., 2018).

### **Protein Ingredient Selection Criteria**

Protein ingredient selection in dairy cattle nutrition is a multifactorial decision, influenced by both economic and nutritional factors. The predominance of cost per unit of CP highlights the cost-effectiveness of diet formulation. This suggests that nutritionists prioritize more affordable protein ingredients, such as conventional soybean meal. However, the low

adherence to RUP and digestible RUP cost analysis suggests less emphasis on optimizing MP supply. The preference for AA balance in Group B may indicate greater knowledge of AA efficiency in dairy cow nutrition, suggesting that some professionals are already adopting more advanced formulation strategies to improve protein conversion efficiency. The lack of selection for the cost per unit of an individual AA reinforces the holistic approach to diet evaluation, rather than focusing solely on individual nutrients.

The difficulty in accessing a wider variety of protein ingredients in different regions is a recurring challenge for Brazilian nutritionists, reflecting logistical and structural limitations in the agricultural sector. Seasonality also impacts availability, making formulation less flexible. Furthermore, the storage difficulties, highlighted by Group B, indicate that professionals working in more technologically advanced systems may face additional challenges when dealing with more perishable ingredients or those that require specific infrastructure for preservation.

On the other hand, the absence of significant differences between the groups in the frequency at which participants conduct bromatological analyses of ingredients, the complete diet, and individual milk samples suggests a relatively homogeneous practice, regardless of milk production level or farm technology level. The higher frequency of monthly analyses for forages and individual milk samples may be related to the nutritional variability of forages throughout the year, influenced by factors such as climate, management, and harvest. Frequent milk analysis may be associated with the need to monitor the nutritional composition of the diet, its efficiency, and potential metabolic issues in cows. Additionally, soybean meal was described as the main protein source in ruminant diets (Silva et al., 2019).

## **Update**

The results demonstrate that nutritionists prioritize scientific articles as their main source of information to stay updated on best nutritional practices, with high adherence across all groups. This suggests that the participants value academic research as the foundation for decision-making, ensuring that their formulations are aligned with the latest evidence. Additionally, participation in courses over the past two years was significant, with 60.0% of nutritionists attending at least three courses or training sessions in the last three years. This

data reflects a continuous effort for professional development, essential to keep up with advances in lactating cow nutrition. However, the percentage of professionals who attended only one or no courses indicates that there are still challenges in disseminating knowledge, possibly due to time, cost, or access limitations to events. These results are consistent with the findings of Silva et al. (2019), who identified the *Journal of Dairy Science* as the main source of scientific information used by Brazilian nutritionists, along with the *MilkPoint* website and the *Leite Integral* magazine. On the other hand, Prestergaard-Wilsson et al. (2021) investigated the preferred sources of information among nutritionists in the United States, highlighting conferences, academic journals, and websites.

### **Excretion of Nitrogen**

The results of the survey indicate that a significant portion of nutritionists are uncertain about the implementation of regulations within the next 5 to 10 years, suggesting that, although there is growing awareness about environmental challenges, uncertainties still exist regarding the feasibility and practicality of such regulations. The fact that 21.4% of nutritionists believe that regulation may occur within this period is also a reflection of the increasing pressure for the production sector to adapt to environmental demands by implementing more sustainable practices. In several countries, including Brazil, controlling nitrogen excretion has been discussed as part of a broader sustainability agenda for agriculture and livestock. However, the nutritionists who see no viability for such regulation suggests that many professionals in the sector still view the implementation of regulatory measures as a complex challenge. Arriola Apelo et al. (2014), estimated that dairy cattle in the United States excrete approximately 1.36 million tons of reactive nitrogen annually in the form of nitrous oxides, with ammonia and nitrates also being excreted each year. This scenario may not differ significantly in Brazil, considering that the primary factor responsible for nitrogen losses in livestock is the nitrogen consumed in the diet, with the remaining fraction being lost in feces and urine (Van Amburgh, 2012). Sajeevet et al. (2018), reported that the release of nitrogen in the form of ammonia can contribute to the eutrophication of terrestrial ecosystems, leading to a decrease in biodiversity and soil acidification due to the deposition of nitrogen compounds.

## CONCLUSION

Nutritionists in this study have adjusted their protein recommendations since the NASEM 2021 model was published. However, they continue to use outdated metrics to assess protein adequacy in diets. They also limit the diversity of concentrate ingredients in lactating cow diets due to high costs and lack of diversification in nearly all regions where they operate. Conventional soybean meal, cottonseed, and urea were identified as the most commonly included ingredients in diet formulations across all milk production groups. Crude protein remains widely used as a formulation metric due to its simplicity and long-standing tradition in the sector. However, while some nutritionist's express confidence in the potential regulation of nitrogen excretion, many still have doubts about the feasibility of this process in the coming years. The adoption of modern formulation tools and the nutritionists' commitment to staying updated on protein recommendations for lactating cows demonstrate a continuous effort to enhance nutritional efficiency, sustainability, and productivity in Brazilian dairy farms.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde a fundação do NRC em 1945, vários modelos foram desenvolvidos com o objetivo de aumentar a produtividade das vacas leiteiras, focado no uso eficiente da proteína para garantir maior sustentabilidade da pecuária leiteira. A evolução da nutrição proteica permite melhorar a eficiência no uso de nitrogênio, reduzindo o impacto ambiental pela excreção de nitrogênio e potencializando desta forma a produção de leite e de seus componentes, resultando em um manejo mais sustentável e economicamente sustentável. O NASEM (2021), representa um marco na evolução da nutrição de vacas leiteiras, contribuindo para o fortalecimento da pecuária leiteira brasileira. Por outro lado, é de extrema importância buscar entender de que forma a nutrição proteica está sendo aplicada na prática, identificando e descrevendo as opiniões e percepções dos nutricionistas que atuam nas fazendas. Uma das estratégias para a descrição das práticas dos nutricionistas é o uso dos questionários, sendo as pesquisas online vantajosas pela não dependência física das pessoas e pela possibilidade de maior abrangência do público-alvo, além de baixo custo para sua implementação.

Um dos principais aprendizados deste estudo foi a dificuldade em obter um número maior de participantes, possivelmente devido à ausência de incentivos para os respondentes. Além disso, o questionário revelou-se excessivamente extenso, com um tempo médio para responder e completar o questionário de aproximadamente 30 minutos. Essa experiência destacou a importância de subdividir o questionário e aplicá-lo em diferentes momentos, o que poderia ter melhorado a taxa de participação. Outro desafio foi o uso de perguntas abertas, que foram, em grande parte, mal compreendidas pelos respondentes. Como consequência, a interpretação dos resultados ficou limitada, e as percepções associadas a essas questões foram menos exploradas. Esse aspecto reforça a necessidade de formular perguntas mais objetivas e claras para garantir respostas mais consistentes e interpretáveis.

## REFERENCES

A.M. Bales, J. M. dos Santos Neto, and A. L. Lock. Effect of increasing dietary inclusion of whole cottonseed on nutrient digestibility and milk production of high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2024. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24787>.

Arriola Apelo, S. I., J. R. Knapp, and M. D. Hanigan. 2014. Invited review: Current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 97:4000–4017. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7392>.

Buza, M.H., and L.A. Holden. 2016. A survey of feeding management practices and by-product feed usage on Pennsylvania dairy farms. *Prof. Anim. Sci.* 32: 248–252. doi:10.15232/pas.2015-01481.

Cardoso, F. F.; Shawn S. Donkin, Marcos N. Pereira, Renata A. N. Pereira, Ana Paula Peconick, Josiane P. Santos, Rayana B. Silva, Vitória R. Caproni,1 Claudia Parys, and Marina A. C. Danes. (2021). Effect of protein level and methionine supplementation on dairy cows during the transition period. *J.Dairy Sci.* 104:5467–5478.

Danes, M. A.; Chagas, L. J.; Pedroso, A. M. and Santos, F. A. P. 2013. Effect of protein supplementation on milk production and metabolism of dairy cows grazing tropical grass. *J. Dairy Sci.* 96(1): 407-419. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5607>.

Danes, M.A.; Carneiro, J. H.; Schmith, R.; de Souza, G. M. 2023a. Protein nutrition of dairy cows: can we work with less protein? In: Polyanna Pizzi Rotta. (Ed.). *International Symposium on Dairy Cattle - Proceedings*. 1st ed. Visconde do Rio Branco: Suprema. 1: 158-185.

Danes, M.A.C.; Paula, E.M.; Parys, C.; Souza, G.M.; Rezende, J.P.A.; Broderick, G.A. and Wattiaux, M.A. 2023b. Effects of amount and profile of amino acids supply on lactation performance, mammary gland metabolism, and nitrogen efficiency in Holstein dairy cows. *Animals*. 13: 1866. doi:10.3390/ani13111866.

De Mori, C.; Ferreira, P. E. P.; Marsaro Júnior, A. L.; Tomm, G. O.; Costamilan, L. M.; Vargas, L.; Nery-Silva, F. A.; Pereira, P. R. V. da S. 2019. Survey of technologies used in canola cultivation by producers in Rio Grande do Sul, Paraná, and Minas Gerais.

de Souza, J., C. L. Preseault, and A. L. Lock. 2018. Altering the ratio of dietary palmitic, stearic, and oleic acids in diets with or without whole cottonseed affects nutrient digestibility, energy partitioning, and production responses of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:172–185. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13460>.

Dillman, D. A., J. D. Smyth, and L. M. Christian. 2014. *Internet, Phone, Mail, and Mixed-Mode Surveys: The Tailored Design Method*. 4th ed. John Wiley & Sons.

Fincham, J. E. 2008. Response rates and responsiveness for surveys, standards, and the journal. *Am. J. Pharm. Educ.* 72:43. <https://doi.org/10.5688/aj720243>.

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. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10822>.

Harrison, J. K. Knowlton; B. James; M. D. Hanigan; C. Stallings and E. Whitefield. 2012. Case Study: National survey of barriers related to precision phosphorus feeding. *Prof. Anim. Sci.* 28:564–568. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30406-X](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30406-X)

Highstreet, A.; Robinson, P.H.; Robison, J.; Garrett, J.G. Response of Holstein Cows to Replacing Urea with a Slowly Rumen Released Urea in a Diet High in Soluble Crude Protein. *Livest. Sci.* 2010, 129, 179–18. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.022>.

Huhtanen, P. and Hristov, A.N. 2009. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 3222–3232. [doi:10.3168/jds.2008-1352](https://doi.org/10.3168/jds.2008-1352).

Jorritsma, R., A. Van der Heide, and I. M. Van Geijlswijk. 2021. Survey of veterinarians in the Netherlands on antimicrobial use for surgical prophylaxis in dairy practice. *J. Dairy Sci.* 104:9106–9114. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19616>.

K. L. Clark, K. Park, and C. Lee. 2024. Exploring the cause of reduced production responses to feeding corn dried distiller's grains in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 107:6717–6731. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-24356>.

Lapierre, H; Martineau, R; Hanigan, M.D; Van Lingen, HJ; Kebreab, E; Spek, J.W. and Ouellet, D.R. 2020. Review: Impact of protein and energy supply on the fate of amino acids from absorption to milk protein in dairy cows. *Animal*. 14: 87–102. doi:10.1017/S1751731119003173.

Ma, S.-W.; Faciola, A.P. 2024. Impacts of Slow-Release Urea in Ruminant Diets: A Review. *Fermentation*. 10, 527. <https://doi.org/10.3390/fermentation10100527>.

Mateus Z. Toledo, Matias L. Stangaferro, Rafael Caputo Oliveira, Pedro L. J. Monteiro Jr., Rodrigo S. Gennari, Daniel Luchini, Randy D. Shaver, Julio O. Giordano, and Milo C. Wiltbank. Effects of feeding rumen-protected methionine pre- and postpartum in multiparous Holstein cows: Health disorders and interactions with production and reproduction. *J. Dairy Sci.* 106:2137–2152. 2023. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21950>.

Mélissa Duplessis, Tom C. Wright, and Masoumeh Bejaei. A survey of Canadian dairy nutritionists to assess current trace element formulation practices. *J. Dairy Sci.* 106:4030–4041. 2023. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22943>.

MilkPoint. 2024. Who Produces Brazilian Milk: Updated and Exclusive Data from 2024. Accessed on January 25, 2025.

National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM). 2021. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 8th rev. ed. The National Academies Press.

National Research Council (NRC). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th revised edition. National Academic Science, Washington, DC, USA.

Oliveira AS, Campos JMS, Ogunade IM, Caixeta DS, Viana EP, Alessi KC. 2018. Performance and utilization of nutrients in dairy cows fed with sunflower meal. *The Journal of Agricultural Science*. 156(10):1233-1240. doi:10.1017/S0021859619000091.

Olmos Colmenero, J.J.; Broderick, G.A. 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 17041712. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72238-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72238-X).

Paula, E. M.; G. A. Broderick, and A. P. Faciola. 2020. Effects of replacing soybean meal with canola meal for lactating dairy cows fed 3 different ratios of alfalfa to corn silage. *J. Dairy Sci.* 103:1463–1471. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16947>.

Prestegard-Wilson, J.M.; Daley, V.L. and Drape, T.A. 2021. A survey of United States dairy cattle nutritionist's practices and perceptions of reducing crude protein in lactating dairy cow diets. *Animal Science.* 37: 697–709. [doi: 10.15232/aas.2021-02179](https://doi.org/10.15232/aas.2021-02179).

Reilly B. Pierce, Yusuf A. Adeniji, Rebecca Bomberger, S. Richard Goodall and Kevin J. Harvatine. Effect of feeding increasing levels of whole cottonseed on milk and milk components, milk fatty acid profile, and total-tract digestibility in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 107:2916–2929. 2024. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23944>.

S. B. Potts, K. M. Brady, C. M. Scholte, K. M. Moyes, N. E. Sunny, and R. A. Erdman. Rumen-protected choline and methionine during the periparturient period affect choline metabolites, amino acids, and hepatic expression of genes associated with one-carbon and lipid metabolism. *J. Dairy Sci.* 106:4559–4579. 2023. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22334>.

Schwab, C.G. and Broderick, G.A. 2017. A 100-year review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:1009410112. [doi:10.3168/jds.2017-13320](https://doi.org/10.3168/jds.2017-13320).

Silva, D.P.; Pedroso, A.M.; Pereira, M.C.S.; Bertoldi, G.P.; Watanabe, D.H.M; Melo, A.C.B and Millen, D.D. 2019. Survey of management practices used by Brazilian dairy farmers and recommendations provided by 43 dairy cattle nutritionists. <http://dx.doi.org/10.1139/cjas-2018-0004>.

Silvestre, A.M. and Millen, D.D. 2021. The 2019 Brazilian survey on nutritional practices provided by feedlot cattle consulting nutritionists. *Revista Brasileira de Zootecnia* 50: 2020-0189. [doi:10.37496/rbz5020200189](https://doi.org/10.37496/rbz5020200189).



**Table 1:** Demographic Information of the Nutritionists Who Participated in the Study

Item	Descriptive parameters				
	Total	Mín.	Máx.	Average	Median
Years of experience of nutritionists		1.0	37.0	10.6	9.0
Number of customers served	3,008	3.0	1,500.0	53.7	20.0
Number of cows	250,972	7.0	120,000.0	4,481.6	1,800.0
Milk production from attended cows (by cow)	1,556.2	12.0	38.0	27.8	30.0

**Note:** Min, minimum; Max, maximum.

**Table 2:** Percentages of Nutritionists using different models for lactating cow diet formulation according to hierarchical clustering (n=56)

Tools	Answer	General (%)	A (%)	B (%)	C (%)	P-value
RLM	Yes	15.7	13.6	22.6	5.9	0.32
	No	84.3	86.4	77.4	94.1	
NASEM 2021	Yes	31.4	27.3	35.5	29.4	0.86
	No	68.6	72.7	64.5	70.6	
AMTS	Yes	12.9	27.3	6.5	5.9	0.09
	No	87.1	72.7	93.5	94.1	
UFLA Spreadsheet	Yes	11.4	9.1	12.9	11.8	0.92
	No	88.6	90.9	87.1	88.2	
Another Excel spreadsheet	Yes	28.6	22.7	22.6	47.1	0.3
	No	71.4	77.3	77.4	52.9	

**Note:** NASEM = National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine; Other Excel Spreadsheet = any other Excel spreadsheet; UFLA Spreadsheet = developed by Professor Marcos Neves Pereira; AMTS = Agricultural Modeling and Training Systems; RLM = Maximum Profit Ration. Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).

**Table 3:** Protein balancing metrics according to priorities

Parameters	Priority	General (%)	A (%)	B (%)	C (%)	P - value
Crude protein	Main	25	22.2	30.4	20	0.79
	Secondary	69.6	77.8	56.5	80	0.61
	Not use	5.4	0.0	13	0.0	0.07
RDP	Main	17.9	33.3	8.7	13.3	0.18
	Secondary	80.4	66.7	91.3	80	0.68
	Not use	1.8	0.0	0.0	6.7	0.27
Metabolizable protein	Main	14.3	22.2	13	6.7	0.48
	Secondary	76.8	77.8	82.6	66.7	0.86
	Not use	8.9	0.0	4.3	26.7	0.03
AA, % MP	Main	10.7	16.7	4.3	13.3	0.42
	Secondary	50	44.4	65.2	33.3	0.36
	Not use	39.3	38.9	30.4	53.3	0.56
AA Individuals, g/d	Main	12.5	16.7	8.7	13.3	0.77
	Secondary	51.8	55.6	56.5	40.0	0.75
	Not use	35.7	27.8	34.8	46.7	0.67
Use efficiency of AA	Main	8.9	16.7	4.3	6.7	0.42
	Secondary	48.2	44.4	60.9	33.3	0.46
	Not use	42.9	38.9	34.8	60.0	0.51
Permissible milk per PM	Main	17.9	22.2	21.7	6.7	0.42
	Secondary	66.1	77.8	60.9	60	0.77
	Not use	16.1	0.0	17.4	33.3	0.02
Milk protein production, g/d	Main	12.5	22.2	4.3	13.3	0.25
	Secondary	66.1	66.7	82.6	40	0.26
	Not use	21.4	11.1	13	46.7	0.08

**Note:** AA, amino acids; PM, metabolizable protein; RDP, rumen degraded protein. Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).

**Table 4: Protein recommendations, diet adjustment and MP/ME ratio**

Questions	Answer	General (%)	A (%)	B (%)	C (%)	P – value
Have your protein recommendations in lactating cow diets changed in the last 3 years?	Yes	76.8	77.8	100	40	0.09
	No	23.2	22.2	0	60	
How often do you evaluate and adjust diets on your client farms?	Biweekly	10.7	11	0	26.7	0.02
	Monthly	62.5	50	73.9	60	0.62
	Less than once a month	16.1	22.2	13	13.3	0.74
	As needed	10.7	16.7	13	0	0.15
Do you usually check the MP/ME (metabolizable protein to metabolizable energy) or AA/ME ratio in the diets you formulate?	Yes	50	61.1	52.2	33.3	0.50
	No	32.1	16.7	26.1	60	0.09
	Sometimes	17.9	22.2	21.7	6.7	0.42

**Note:** AA, amino acids; MP, metabolizable protein; ME metabolizable energy. Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).

**Table 5:** Tools used by nutritionists to assess the adequacy of protein in the diet of lactating cows.

Parameters	Answer	General (%)	A (%)	B (%)	C (%)	P – value
Bromatological analyzes	Yes	78.6	83.3	78.3	73.3	0.95
	No	21.4	16.7	21.7	26.7	
Feed intake	Yes	51.8	38.9	65.2	46.7	0.49
	No	48.2	61.1	34.8	53.3	
Milk protein content in the tank	Yes	62.5	55.6	73.9	53.3	0.67
	No	37.5	44.4	26.1	46.7	
Protein content of milk from individual cows	Yes	25.0	22.2	30.4	20.0	0.79
	No	75.0	77.8	69.6	80.0	
Tank MUN	Yes	87.5	94.4	91.3	73.3	0.78
	No	12.5	5.6	8.7	26.7	
MUN individual cows	Yes	35.7	27.8	47.8	26.7	0.46
	No	64.3	72.2	52.2	73.3	
Stool score	Yes	62.5	61.1	60.9	66.7	0.97
	No	37.5	38.9	39.1	33.3	
Other	Yes	3.6	5.6	4.3	0.0	0.53
	No	96.4	94.4	95.7	100.0	

**Note:** MUN, milk urea nitrogen. Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).

**Table 6.** Protein concentrate ingredients included in the formulation of diets for lactating cows.

<b>Ingredients</b>	<b>Use</b>	<b>Geral (%)</b>	<b>A (%)</b>	<b>B (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>P –value</b>
Protein ingredients in the diet <sup>1</sup>	-	2.7 ± 1.0	3.1 <sup>a</sup> ± 0.2	2.8 <sup>ab</sup> ± 0.2	2.1 <sup>c</sup> ± 0.2	0.02
Conventional soybean meal	Yes	100.0	100.0	100.0	100.0	0.99
	No	0.0	0.0	0.0	0.0	
Urea	Yes	80.4	77.8	82.6	80.0	0.99
	No	19.6	22.2	17.4	20.0	
DDGS <sup>2</sup>	Yes	58.9	66.7	73.9	26.7	0.12
	No	41.1	33.3	26.1	73.3	
High RUP soybean meal <sup>3</sup>	Yes	51.8	61.1	65.2	20.0	0.09
	No	48.2	38.9	34.8	80.0	
Soybeangrain	Yes	1.8	5.6	0.0	0.0	0.32
	No	98.2	94.4	100.0	100.0	
Cottonseed meal	Yes	87.5	94.4	91.3	73.3	0.78
	No	12.5	5.6	8.7	26.7	
Canola meal	Yes	19.6	22.2	30.4	0.0	0.03
	No	80.4	77.8	69.6	100.0	
Cottonseed meal	Yes	14.3	5.6	13.0	26.7	0.28
	No	85.7	94.4	87.0	73.3	
Peanutbran	Yes	7.1	11.1	4.3	6.7	0.73
	No	92.9	88.9	95.7	93.3	
Sunflower meal	Yes	0.0	0.0	0.0	0.0	-
	No	100.0	100.0	100.0	100.0	
Brewer's yeast	Yes	5.4	0.0	4.3	13.3	0.2
	No	94.6	100.0	95.7	86.7	
Brewery residue <sup>4</sup>	Yes	42.9	38.9	47.8	40.0	0.89
	No	57.1	61.1	52.2	60.0	
Metionine <sup>5</sup>	Yes	32.1	66.7	17.4	13.3	0.01
	No	67.9	33.3	82.6	86.7	
Lysine <sup>5</sup>	Yes	10.7	11.1	8.7	13.3	0.91
	No	89.3	88.9	91.3	86.7	

<sup>1</sup>Variance analysis. General = average ± standard deviation. A, B e C = least square means ± standard error of the mean. Comparison of results by Tukey test. <sup>2</sup>Dried distiller's grains with solubles. <sup>3</sup>Rumen undegraded protein. <sup>4</sup>Dry or wet. <sup>5</sup>Protected from rumen degradation. Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).

**Table 7:** Criteria for Decision-Making in the Selection of Protein Ingredients

<b>Metric used</b>	<b>Use</b>	<b>General (%)</b>	<b>A (%)</b>	<b>B (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>P -value</b>
Cost per unit of crude protein	Yes	58.9	66.7	56.5	53.3	0.87
	No	41.1	33.3	43.5	46.7	
Cost per unit of RUP	Yes	7.1	11.1	0.0	13.3	0.12
	No	92.9	88.9	100.0	86.7	
Cost per unit of digestible RUP	Yes	3.6	5.6	4.3	0.0	0.53
	No	96.4	94.4	95.7	100.0	
Cost for the best amino acid combination (higher amino acid utilization efficiency)	Yes	19.6	11.1	30.4	13.3	0.32
	No	80.4	88.9	69.6	86.7	
Another metric	Yes	10.7	5.6	8.7	6.7	0.93
	No	89.3	94.4	91.3	93.3	

**Note:** AA, amino acids; RUP, Rumen undegraded protein. Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).

**Table 8:** Main limitations for increasing protein ingredients in diets

		<b>General (%)</b>	<b>A (%)</b>	<b>B (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>P-value</b>
I don't see the need to increase the number of ingredients	Yes	14.3	11.1	13.0	20.0	0.79
	No	85.7	88.9	87.0	80.0	
Lack of adequate nutritional characterization of alternative ingredients	Yes	5.4	5.6	4.3	6.7	0.95
	No	94.6	94.4	95.7	93.7	
Difficulty finding this diversity in the regions where I work	Yes	41.1	38.9	34.8	53.3	0.69
	No	58.9	61.1	65.2	46.7	
The diet generally becomes more expensive	Yes	5.4	11.1	0.0	6.7	0.19
	No	94.6	88.9	100.0	93.3	
Seasonality of ingredients	Yes	8.9	5.6	8.7	13.3	0.76
	No	91.1	94.4	91.3	86.7	
Difficulty in storage	Yes	21.4	22.2	34.8	0.0	0.02
	No	78.6	77.8	65.2	100.0	
Lack of money to purchase more ingredients	Yes	3.6	5.6	4.3	0.0	0.53
	No	96.4	94.4	95.7	100.0	

**Note:** Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).

**Table 9: Frequency of performing feed analyses**

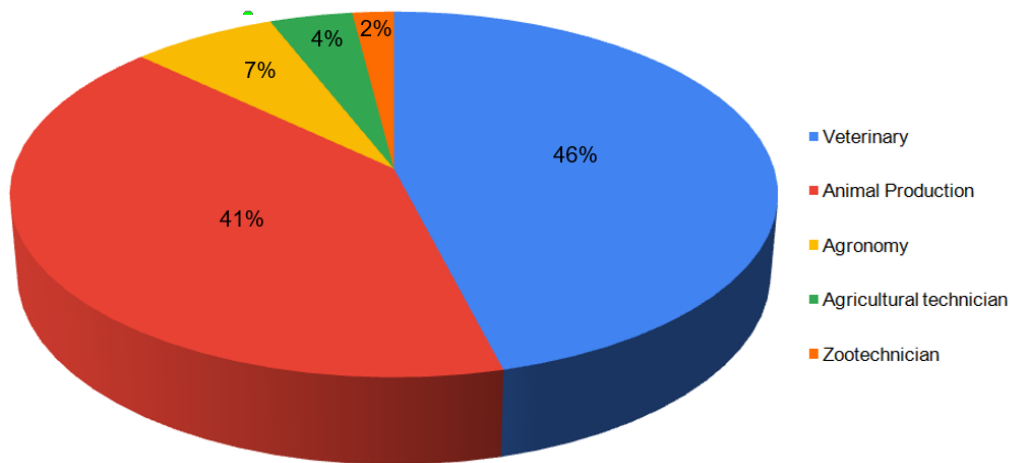
Type of feeding	Period	General (%)	A (%)	B (%)	C (%)	P-value
Forage	Twice or more monthly	3.6	11.1	0.0	0.0	0.10
	Monthly	46.4	50.0	60.9	20.0	0.14
	3 or 4 times annually	44.6	38.9	34.8	66.7	0.35
	Never	5.4	0.0	4.3	13.3	0.20
Protein concentrates	Monthly	5.4	5.6	8.7	0.0	0.37
	3 or 4 times annually	53.6	50.0	60.9	46.7	0.82
	Never	41.1	44.4	30.4	53.3	0.54
Co-products	Monthly	12.5	5.6	17.4	13.3	0.54
	3 or 4 times annually	46.4	50.0	52.2	33.3	0.53
	Never	41.1	44.4	30.4	53.3	0.66
Full diet	Twice or more monthly	1.8	0.0	4.3	0.0	0.54
	Monthly	21.4	22.2	21.7	20.0	0.41
	3 or 4 times annually	46.4	33.3	56.5	46.7	0.99
	Never	30.4	44.4	17.4	33.3	0.55
Individual milk	Twice or more monthly	5.4	11.1	0.0	6.7	0.28
	Monthly	42.9	33.3	56.5	33.3	0.19
	3 or 4 times annually	25.0	27.8	17.4	33.3	0.43
	Never	26.8	27.8	26.1	26.7	0.60

**Note:** Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).

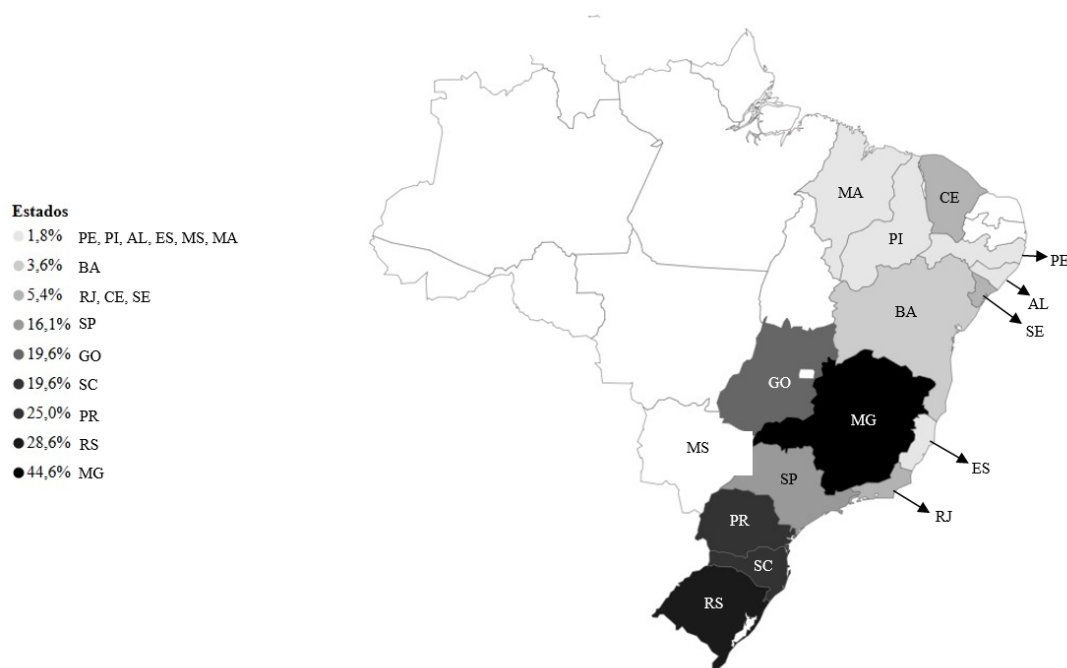
**Table 10:** Courses attended by nutritionists in the last two years

<b>Number of courses</b>	<b>Participation</b>	<b>General (%)</b>	<b>A (%)</b>	<b>B (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>P value</b>
Three or more courses	Yes	60.7	55.6	69.6	53.3	0.77
	No	39.3	44.4	30.4	46.7	
Two courses	Yes	25.0	27.8	21.7	26.7	0.92
	No	75.0	72.2	78.3	73.3	
One course	Yes	7.1	11.1	4.3	13.3	0.60
	No	92.9	88.9	95.7	86.7	
None	Yes	7.1	5.6	4.3	6.7	0.95
	No	92.9	94.4	95.7	93.3	

**Note:** Group A, milk production of 34.9kg/d (n=18); Group B, milk production of 28.3kg/d (n=23); Group C, milk production of 19.5kg/d (n=15).



**Figure 1:** Area of training of nutritionists formulating diets on dairy farms in Brazil (n=56).



**Figure 2:** Distribution of States Where Farms Served by Nutritionists Are Located (n=56). Darker shades indicate a higher concentration of clients, while lighter shades indicate a lower concentration. White areas indicate that no clients are served in those states. MG = Minas Gerais, RS = Rio Grande do Sul, PR = Paraná, GO = Goiás, SC = Santa Catarina, SP = São Paulo, SE = Sergipe, CE = Ceará, RJ = Rio de Janeiro, BA = Bahia, AL = Alagoas, ES = Espírito Santo, MA = Maranhão, MS = Mato Grosso do Sul, PE = Pernambuco, PI = Piauí.