

UREA DE LIBERACIÓN LENTA EN DIETAS PARA BOVINOS PRODUCTORES DE CARNE: DIGESTIBILIDAD, SÍNTESIS MICROBIANA Y CINÉTICA RUMINAL

SLOW RELEASE UREA IN BEEF CATTLE DIETS: DIGESTIBILITY, MICROBIAL SYNTHESIS AND RUMEN KINETIC

Román D. Castañeda-Serrano^{1,2*}, Antonio Ferriani-Branco², Silvana Teixeira²,
Tatiana Garcia-Diaz², Altair Diego-Sofiati²

¹Universidad Cooperativa de Colombia. (romancaser@gmail.com). ²Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Universidade Estadual de Maringá. Paraná. Brasil.

RESUMEN

Hay interés en buscar fuentes alternativas de urea que puedan degradarse lentamente en el rumen para evitar los problemas y restricciones derivadas de su uso. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de sustituir urea convencional por urea de liberación lenta (ULL) en dietas para bovinos productores de carne, sobre el consumo voluntario, los coeficientes de digestibilidad aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) y total (CDT) de los nutrientes, la síntesis de proteína microbiana y la cinética ruminal. Se usaron cuatro novillos Nelore (peso vivo 565 ± 45 kg), con cánula ruminal, en un diseño experimental Cuadro Latino 4×4 . Los tratamientos fueron los siguientes: 0 ULL=100 % urea, 33 ULL=66 % urea y 33 % ULL; 66 ULL=33 % urea y 66 % ULL; 100 ULL=100 % ULL. Los datos fueron analizados por ANOVA y cuando hubo efectos de tratamiento ($p \leq 0.05$) se realizó un análisis de regresión polinomial. Los tratamientos no cambiaron ($p > 0.05$) el consumo de materia seca (CMS), el CDR, el CDI y el CDT de la MS, proteína (PC) y carbohidratos no fibrosos (CNF). Sin embargo, el flujo ruminal de la MS, materia orgánica y PC se redujo linealmente ($p \leq 0.05$) al aumentar el nivel de ULL en la dieta. La inclusión de la ULL aumentó linealmente ($p \leq 0.05$) el CDR de la fibra detergente neutro (FDN). La sustitución de urea por ULL no afectó ($p > 0.05$) la síntesis de proteína microbiana ni la cinética ruminal. Se concluye que el uso de ULL en la dieta para novillos Nelore mejoró la digestibilidad aparente ruminal de la fibra, sin afectar la síntesis de proteína microbiana y cinética ruminal.

Palabras clave: nitrógeno no proteico, rumiantes, urea de lenta liberación.

*Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: julio, 2012. Aprobado: noviembre, 2012.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 47: 13-24. 2013.

ABSTRACT

There is an interest in finding alternatives for urea that can slowly degrade in the rumen to avoid problems and restrictions derived from its use. The objective of this study was to evaluate the effects of substituting conventional urea for slow release urea (SRU) in diets for beef cattle, on voluntary consumption, coefficients of apparent (ARD), intestinal (IRD) and total (TRD) rumen digestibility of nutrients, microbial protein synthesis, and rumen kinetics. Four Nelore steers (live weight 565 ± 45 kg) were used, with a rumen cannula, in a Latin Square experimental design of 4×4 . The treatments were the following: 0 SRU=100 % urea, 33 SRU=66 % urea and 33 % SRU; 66 SRU=33 % urea and 66 % SRU and 100 SRU=100% SRU. The data were analyzed through ANOVA and when there were treatment effects ($p \leq 0.05$), a polynomial regression analysis was performed. The dry matter consumption (DMC), the ARD, IRD and TRD of the DM, protein (PC) and non-fibrous carbohydrates (NFC) were not affected ($p > 0.05$) by treatments. However, the rumen flow of DM, organic matter and PC was linearly reduced ($p \leq 0.05$) when increasing the level of SRU in the diet. The inclusion of SRU increased linearly the ARD of neutral detergent fiber (NDF) ($p \leq 0.05$). Substituting urea for SRU did not affect ($p > 0.05$) microbial protein synthesis or rumen kinetics. We conclude that the use of SRU in the diet for Nelore steers improved the apparent rumen digestibility of fiber, without affecting microbial protein synthesis and rumen kinetics.

Key words: non-protein nitrogen, ruminants, slow release urea.

INTRODUCTION

The most common source of non-protein nitrogen (NPN) used in ruminants' diets is urea, due to its low cost and high protein

INTRODUCCIÓN

La fuente más común de nitrógeno no proteínico (NPN) usada en la alimentación de rumiantes es la urea, debido a su costo bajo y a su equivalente proteínico elevado de 281 %. Una unidad de urea en la dieta puede sustituir cinco unidades de harina de soja (*Glycine max*) (Pinos-Rodríguez *et al.*, 2010). El problema mayor con la urea es su degradación ruminal rápida la cual es difícil de sincronizar con la degradación de carbohidratos y el crecimiento microbiano, procesos que ocurren más lentamente, y la rápida liberación de amoníaco en el rumen ocasiona un uso ineficiente del nitrógeno por los microorganismos, limitando la inclusión de urea en las dietas de rumiantes (Satter y Roffler, 1975).

Una fuente de NPN de liberación lenta podría reducir el riesgo de intoxicación causada por la urea y aumentar el espacio para la inclusión de ingredientes en la dieta sustituyendo fuentes de proteína vegetal, las cuales son de costo alto y disponibilidad limitada, mejorando el sincronismo de nutrientes en el rumen sin comprometer el rendimiento animal (Souza *et al.*, 2010). Por el periodo de adaptación requerido de los rumiantes a la urea y con base en la sincronización de la tasa de degradación de nutrientes en el rumen, la digestibilidad de la fibra mejora al usar una fuente de urea de liberación lenta (ULL; Ørskov, 1999). En el mercado hay productos con urea protegida desarrollados a base de polímeros, compuestos de poliuretano (Xin *et al.*, 2010), urea encapsulada (Taylor-Edwards *et al.*, 2009), y urea físicamente encapsulada por ceras vegetales. Pero algunos compuestos pueden no ser ventajosos porque parte del NPN sale del rumen sin degradarse, reduciendo su incorporación a la proteína microbiana (Firkins *et al.*, 2007).

Según Azevedo *et al.* (2010), la ULL es una alternativa de NPN de liberación lenta, puede reducir la velocidad de hidrólisis de la urea y optimizar la fermentación ruminal. Pero es necesario comprobar lo anterior, por ejemplo en dietas altas en forraje y con diversas fuentes de carbohidratos no fibrosos. Con un equivalente proteínico de 256 %, la ULL se degrada en 16 a 24 h en el rumen porque su solubilidad es más lenta y constante que la urea convencional, la cual se degrada instantáneamente. Así se evita el desequilibrio entre la liberación de energía y nitrógeno.

equivalent of 281 %. One unit of urea in the diet can substitute five units of soy meal (*Glycine max*) (Pinos-Rodríguez *et al.*, 2010). The greatest problem with urea is its fast rumen degradation, which is hard to synchronize with the degradation of carbohydrates and microbial growth, processes that occur more slowly, and the fast liberation of ammonia in the rumen that causes an inefficient use of nitrogen by microorganisms, thus limiting the inclusion of urea in ruminants' diets (Satter and Roffler, 1975).

A source of NPN of slow liberation could reduce the risk of intoxication caused by urea and increase the space for inclusion of ingredients in the diet by substituting sources of plant protein, which are of high cost and limited availability, improving the synchronism of nutrients in the rumen without compromising animal yield (Souza *et al.*, 2010). Because of the adaptation period to urea required by ruminants, and based on the synchronization of the degradation rate of nutrients in the rumen, the digestibility of fiber improves when using a slow release urea source (SRU; Ørskov, 1999). In the market there are products with protected urea developed based on polymers, polyurethane compounds (Xin *et al.*, 2010), capsuled urea (Taylor-Edwards *et al.*, 2009), and physically encapsulated urea by plant waxes. But some of these compounds are probably not advantageous because part of the NPN would exit the rumen without being degraded, reducing its incorporation into microbial protein (Firkins *et al.*, 2007).

According to Azevedo *et al.* (2010), SRU is an NPN alternative of slow release, which can reduce the speed of urea hydrolysis and optimize rumen fermentation. But it is necessary to test this, for example in diets high in fodder and with various sources of non-fiber carbohydrates. With a protein equivalent of 256 %, SRU is degraded in 16 to 24 h within the rumen because its solubility is slower and more constant than conventional urea, which is degraded instantly. Thus, the imbalance between liberation of energy and nitrogen is avoided.

The objective of this study was to evaluate the effects of four levels of urea substitution for SRU, in diets for beef cattle, over apparent digestibility, microbial protein synthesis and rumen kinetics.

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de cuatro niveles de sustitución de urea por ULL en dietas para bovinos productores de carne, sobre la digestibilidad aparente, la síntesis de proteína microbiana y la cinética ruminal.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el sector de evaluación de alimentos para rumiantes de la Granja Experimental de Iguatemi (FEI) y el Laboratorio de Análisis de Alimentos y Nutrición Animal (LANA), de la Universidad Estadual de Maringá (UEM), Brasil.

Se usaron cuatro novillos Nelore (peso vivo 565 ± 45 kg) con cánula ruminal, alojados en corrales individuales (8.75 m² área total), equipados con comederos y bebederos automáticos individuales. Los alimentos se proporcionaron a voluntad en forma de mezcla completa a las 08:00 h y 16:00 h. Las dietas fueron formuladas para permitir ganancias de peso diarias de 1.10 a 1.20 kg d⁻¹. El diseño experimental fue un Cuadro Latino 4×4, con período experimental de 21 d: 15 d para adaptación a las dietas experimentales (Cuadro 1) y 6 d para recolectar muestras (alimentos ofrecidos, rechazos, heces, líquido ruminal, digesta omasal y orina).

El consumo se ajustó para obtener 5-10 % de rechazos del alimento total ofrecido. El consumo diario se calculó como la diferencia entre el alimento proporcionado y el alimento rechazado, con base en la materia seca (MS). La relación entre forraje y concentrado de las dietas fue 40:60. La composición química y porcentual de los alimentos y las dietas experimentales se muestra en los Cuadros 1 y 2.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was performed in the evaluation sector for ruminant diets of the Iguatemi Experimental Farm (FEI) and the Food and Animal Nutrition Analysis Laboratory (LANA), in the Universidad Estadual de Maringá (UEM), Brazil.

Four Nelore steers were used (live weight of 565 ± 45 kg), with a rumen cannula, housed in individual pens. The foods were provided at will in a complete mix at 08:00 h and 16:00 h. The diets were formulated to allow daily weight gains of 1.10 to 1.20 kg d⁻¹. The experimental design was a Latin Square 4×4, with an experimental period of 21 d: 15 d for adaptation to the experimental diets (Table 1) and 6 d to collect samples (foods offered, rejections, feces, rumen liquid, omasal digest and urine).

Consumption was adjusted to obtain 5-10 % of rejections from the total food offered. Daily consumption was calculated as the difference between food supplied and food rejected, based on the dry matter (DM). The rate between fodder and diet concentrate was 40:60. The chemical and percentage composition of foods and experimental diets is shown in Tables 1 and 2.

For treatments, conventional urea was substituted for SRU: 0 SRU=100 % urea, 33 SRU=66.5 % urea and 33.5 % SRU, 66 SRU=33.5 % urea and 66.5 % SRU and 100 SRU=100 % SRU.

In order to determine total and partial digestibility of DM, organic matter (OM), protein (PC), ether extract (EE), neutral detergent fiber corrected for ash and proteins (NDF-cp) and non-fiber carbohydrates (NFC), samples of omasal chyme were collected (~500 mL) through the omasal reticular orifice by suction, based on the technique described by Leão *et al.* (2005), and feces (~200 g) directly in the rectum.

Cuadro 1. Composición química de los ingredientes usados en las dietas experimentales (%).

Table 1. Chemical composition of ingredients used in the experimental diets (%).

Ingrediente	MS	PC	EE	Ceniza	FDNcp	FDA	ELm	ELg
Ensilaje de sorgo	27.6	6.8	2.1	5.1	66.0	39.5	1.3	0.7
Maíz	88.8	8.5	4.7	1.2	12.4	3.2	2.2	1.6
Salvado de trigo	87.6	19.0	2.8	5.7	27.7	10.0	1.6	1.0
Urea	99.0	281.0	-	-	-	-	-	-
ULL [†]	99.0	256.0	-	-	-	-	-	-
Glicerina cruda [‡]	89.1	0.3	-	6.4	-	-	2.0	1.4

[†] ULL=Optigen®II. [‡]Contenido: 73.5 % glicerol, 6.0 % ácidos grasos libres, 1.52 % metanol y 0.05 % etanol (Industria Biopar, Rolândia – Paraná, Brasil). MS=materia seca; PC=proteína; FDNcp=fibra detergente neutro corregida para cenizas; FDA=fibra detergente ácido; ELm=energía líquida para mantenimiento (Mcal kg⁻¹ MS). ELg=energía líquida para ganancia (Mcal kg⁻¹ MS), calculados de acuerdo al NRC (2000) ❖ [†] ULL=Optigen®II. [‡]Content: 73.5 % glycerol, 6.0 % free fatty acids, 1.52 % methanol and 0.05 % ethanol (Industria Biopar, Rolândia – Paraná, Brasil). MS=dry matter; PC=protein; FDNcp=neutral detergent fiber corrected for ashes; FDA=acid detergent fiber; Elm=liquid energy for maintenance (Mcal kg⁻¹ MS). ELg=liquid energy for gain (Mcal kg⁻¹ MS), calculated according to the NRC (2000).

Cuadro 2. Composición porcentual y química de las dietas experimentales.
Table 2. Percentage and chemical composition of experimental diets.

Ingrediente	Composición de las dietas experimentales (% MS)			
	0 ULL	33 ULL	66 ULL	100 ULL
Ensilaje de sorgo	40.00	40.00	40.00	40.00
Maíz	24.70	24.65	24.60	24.55
Salvado de trigo	20.00	20.00	20.00	20.00
Glicerina bruta	12.00	12.00	12.00	12.00
Carbonato de calcio	1.00	1.00	1.00	1.00
Cloruro de sodio	0.30	0.30	0.30	0.30
Premix mineral [†]	0.50	0.50	0.50	0.50
Urea	1.50	1.00	0.50	0.00
ULL	0.00	0.55	1.10	1.65
Composición química				
PC	12.63	12.63	12.62	12.62
EE	4.05	4.05	4.05	4.05
Cenizas	2.94	2.94	2.94	2.94
FDNcp	36.56	36.56	36.56	36.56
CNF	44.43	44.44	44.45	44.46
NDT	71.00	71.00	71.00	71.00
ELm (Mcal kg ⁻¹)	1.64	1.64	1.64	1.64
ELg ³ (Mcal kg ⁻¹)	1.05	1.05	1.05	1.05

[†]Premix mineral: 0.023 % yodato de calcio, 0.127 % óxido de zinc, 0.0089 % selenito de sodio, 0.03 % sulfato de cobalto, 1.2 % sulfato de cobre, 2.07 % sulfato de manganeso. PC=proteína; EE=extracto etéreo; FDNcp=fibra detergente neutro corregida para cenizas y CNF=carbohidratos no fibrosos, calculados según Sniffen *et al.* (1992); ELm=energía líquida para mantenimiento, y ELg=energía líquida para ganancia, calculados según NRC (2000) ❖
[‡]Mineral premix: 0.023 % calcium iodate, 0.127 % zinc oxide, 0.0089 % sodium selenite, 0.03 % cobalt sulfate, 1.2 % copper sulfate, 2.07 % manganese sulfate. PC=protein; EE=ether extract; FDNcp=neutral detergent fiber corrected for ashes and CNF=non-fiber carbohydrates, calculated based on Sniffen *et al.* (1992); ELm=liquid energy for maintenance, and ELg=liquid energy for gain, calculated based on the NRC (2000).

Para los tratamientos se sustituyó urea convencional por ULL: 0 ULL=100 % urea, 33 ULL=66.5 % urea y 33.5 % ULL, 66 ULL=33.5 % urea y 66.5 % ULL y 100 ULL=100 % ULL.

Para determinar la digestibilidad total y parcial de la MS, materia orgánica (MO), proteína (PC), extracto etéreo (EE), fibra detergente neutro corregida para cenizas y proteínas (FDNcp) y carbohidratos no fibrosos (CNF), se recolectaron muestras de quimo omasal (~500 mL) a través del orificio retículo omasal por succión, de acuerdo con la técnica descrita por Leão *et al.* (2005), y heces (~200 g) directamente en el recto.

Las muestras de quimo omasal y de heces se recolectaron desde el día 14, durante 6 d, a 0, 2, 4, 6, 8 y 10 h después de la alimentación a las 08:00 h, y se tomaron seis muestras de digesta omasal y seis muestras de heces por animal/tratamiento/ período.

Para medir el flujo omasal y producción fecal se administraron 10 g d⁻¹ de dióxido de titanio (TiO₂) directamente en el

Samples of omasal chyme and feces were collected from day 14, for 6 d, at 0, 2, 4 6 8 and 10 h after feeding at 08:00 h, and six samples of omasal digest were taken, as well as six samples of feces per animal/treatment/period.

To measure the omasal flow and fecal production, 10 g d⁻¹ of titanium dioxide (TiO₂) was administered directly in the rumen, from day 7 of each period. The omasal chyme and feces samples were placed in marked plastic bags and frozen at -20 °C. These samples were thawed, pre-dried for 72 h in an air circulation stove at 55 °C and ground in Willey type mills (1 mm mesh). The samples were mixed based on the percentage of dry weight to obtain samples made up of omasal digest and feces per animal/treatment/period.

Feed orts were collected from the feeders every day during the experiment, weighed and homogenized to carry out a compound sample per steer in each period. Samples of sorghum, maize and wheat bran silage were collected once per experimental period.

rumen, desde el día 7 de cada período. Las muestras de quimo omasal y de heces se colocaron en bolsas plásticas identificadas y se congelaron a -20°C . Estas muestras fueron descongeladas, pre-secadas 72 h en una estufa de circulación de aire a 55°C y molidas en molinos tipo Willey (malla 1 mm). Las muestras se mezclaron con base en el porcentual del peso seco para obtener muestras compuestas de quimo omasal y heces por animal/tratamiento/período.

Los rechazos de alimentos se recogieron de los comederos diariamente durante el experimento, se pesaron y homogenizaron para realizar una muestra compuesta por novillo en cada período. Las muestras de ensilaje de sorgo, maíz y salvado de trigo se recolectaron una vez por período experimental.

Las muestras de alimentos usados en las dietas experimentales, los rechazos, el quimo omasal y heces se analizaron para determinar MS, MO, PC, EE y cenizas (AOAC, 1990), FDNcp y FDA (Van Soest *et al.*, 1991). Los valores de carbohidratos no fibrosos (CNF) y nutrientes digestibles totales (NDT) se calcularon con las ecuaciones de Sniffen *et al.* (1992). Las muestras de quimo omasal y las heces fueron analizadas para titanio (Myers *et al.* 2004).

Durante el día 21 de cada período experimental se recolectaron a través de la cánula ruminal las muestras de fluido ruminal, para determinar la cinética ruminal de la fase líquida. Se administraron directamente en el rumen de cada novillo, 30 g del complejo cobalto-EDTA (Co-EDTA) disueltos en 500 mL de agua destilada antes de la alimentación de las 08:00 h, en diferentes lugares en una dosis única de acuerdo con Uden *et al.* (1980), y se recolectaron muestras de 50 mL de fluido ruminal a 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 24 h.

La tasa de pasaje de líquidos y las curvas de concentración ruminal de Co-EDTA se ajustaron al modelo exponencial unicompartimental de Hungate (1966), $Y_{co}=A.e^{(-k_1.t)}$, donde Y_{co} =concentración del indicador en el tiempo t , A =concentración de equilibrio de cobalto (tiempo cero), kp =tasa de pasaje o dilución de cobalto y t =tiempo de muestreo. Las variables de la cinética ruminal de la fase líquida se calcularon de acuerdo con Colucci *et al.* (1990): tiempo de retención en el rumen ($TR, \% h^{-1}$)= $1/kp$; volumen ruminal (VR, L)=cantidad de cobalto proporcionado (mg)/ A ($mg L^{-1}$); tasa de reciclaje de la fase líquida ruminal ($TRec, veces d^{-1}$)= $24 h TR^{-1}$, calculada según Maeng y Baldwin (1976).

Entre los días 17 y 20 de cada período experimental se recolectaron cuatro muestras de orina por novillo, entre 3 y 4 h después de la alimentación de las 08:00 h, durante la micción espontánea. Las muestras de orina se homogenizaron y se filtraron a través de filtros de tela y alícuotas de 10 mL se diluyeron inmediatamente en 40 mL de H_2SO_4 a 0.036 N (Chen *et al.*, 1995). El pH en las muestras fue ajustado a valores inferiores a 3

Samples of the foods used in experimental diets, rejections, omasal chyme and feces were analyzed to determine DM, OM, PC, EE and ashes (AOAC, 1990), NDFcp and ADF (Van Soest *et al.*, 1991). The values of non-fiber carbohydrates (NFC) and total digestible nutrients (TDN) were calculated with the Sniffen *et al.* (1992) equations. Samples of omasal chyme and feces were analyzed for titanium (Myers *et al.*, 2004).

During day 21 of each experimental period, samples of rumen fluid were collected through the rumen cannula, to determine the rumen kinetics of the liquid phase. In each steer's rumen, 30 g of the cobalt-EDTA (Co-EDTA) compound were directly applied, dissolved in 500 mL of distilled water, before feeding at 08:00 h, in different places in a single dosage according to Uden *et al.* (1980), and 50 mL samples of rumen fluid were collected at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 24 h.

The rate of passage of liquids and curves of rumen concentration of Co-EDTA were adjusted to the exponential single-compartment model by Hungate (1966), $Y_{co}=A.e^{(-k_1.t)}$, where Y_{co} =concentration of the indicator in time t , A =equilibrium concentration for cobalt (time zero), kp =rate of passage or dilution of cobalt, and t =time of sampling. The variables for rumen kinetics of the liquid phase were calculated based on Colucci *et al.* (1990): time of retention in the rumen ($RT, \% h^{-1}$)= $1/kp$; rumen volume (RV, L)=amount of cobalt supplied (mg)/ A ($mg L^{-1}$); rate of recycling of the rumen liquid phase ($TRec, times d^{-1}$)= $24 h RT^{-1}$, calculated according to Maeng and Baldwin (1976).

Between days 17 and 20 of each experimental period, four urine samples were collected per steer, between 3 and 4 h after feeding at 08:00 h, during spontaneous urination. The urine samples were homogenized and filtered through cloth filters, and aliquots of 10 mL were immediately diluted in 40 mL of H_2SO_4 at 0.036 N (Chen *et al.*, 1995). The pH in the samples was adjusted to values lower than 3 to avoid the bacterial destruction of purine derivatives and the precipitation of uric acid; later, they were stored at -20°C for analysis of allantoin and uric acid. One subsample of urine without acid was taken on the same day to the laboratory to determine the concentration of creatinine in the urine through the method of final point, using picrate and an acidifying agent based on recommendations by the kit's manufacturing company (GoldAnalisa®).

From the creatinine excretion for Nelore steers ($27.4 mg kg^{-1}$) (Barbosa *et al.*, 2006), and the creatinine concentration ($mg L^{-1}$) in the urine sample, the daily volume of urine was calculated and used to calculate the daily excretion of allantoin and uric acid in each steer.

The analysis of allantoin in the urine was performed by colorimetry, based on the Fujihara *et al.* (1987) technique

para evitar la destrucción bacteriana de los derivados de purina y la precipitación de ácido úrico; después se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para análisis de alantoína y ácido úrico. Una submuestra de orina sin ácido fue llevada el mismo día al laboratorio para determinar la concentración de creatinina en la orina por el método de punto final usando picrato y acidificante según las recomendaciones de la empresa fabricante (GoldAnalisa[®]).

A partir de la excreción de creatinina para novillos Nelore (27.4 mg kg^{-1}) (Barbosa *et al.*, 2006), y la concentración de creatinina (mg L^{-1}) en la muestra de orina, se calculó el volumen diario de orina y se usó para calcular la excreción diaria de alantoína y ácido úrico de cada novillo.

El análisis de alantoína en la orina se realizó por colorimetría, según la técnica de Fujihara *et al.* (1987) y con modificaciones menores (Chen y Gomes, 1992). La concentración de ácido úrico se realizó con kits comerciales (Labtest[®]). La excreción total de derivados de purina fue el resultado de la excreción urinaria de alantoína y ácido úrico.

Las purinas microbianas absorbidas (X , mmol d^{-1}) se calcularon de la excreción de derivados de purinas (Y , mmol d^{-1}): $Y=0.85 X+0.385 PV^{0.75}$, donde 0.85 es la recuperación de purinas absorbidas como derivados de purinas y $0.385 PV^{0.75}$ es la contribución endógena para la excreción de purinas (Verbic *et al.*, 1990).

El flujo intestinal de compuestos nitrogenados microbianos (N_{mic} , g N d^{-1}) se calculó de las purinas microbianas absorbidas (P_{abs} , mmol d^{-1}): $N_{mic}=(70 *P_{abs})/(0.83*0.116*1000)$, donde 70 corresponde al contenido de N en las purinas ($\text{mg N}^{-1}\text{ mmol}$) y 0.83 es la digestibilidad de las purinas microbianas; 0.116 es la relación N purina: N total de los microorganismos del rumen (Chen y Gomes, 1992).

Los datos fueron analizados por un ANDEVA usando el procedimiento GLM y cuando hubo un efecto significativo ($p\leq 0.05$) para el tratamiento se realizó un análisis de regresión polinomial (SAS, 2004). El diseño experimental fue un Cuadro Latino 4×4 , con cuatro tratamientos, cuatro periodos y cuatro novillos. El modelo estadístico fue:

$$Y_{ijk}=\mu+A_i+P_j+T_k+e_{ijk}$$

donde Y_{ijk} =respuestas al tratamiento k , del animal i , en el período j ; μ =media de los tratamientos; A_i =efecto del animal i , (1...4); P_j =efecto del periodo j , (1...4); T_k =efecto del tratamiento k , (1...4); e_{ijk} =error residual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El consumo de MS (CMS), de MO, PC, FDN y CNF no fue influenciado por los tratamientos.

with minor modifications (Chen and Gomes, 1992). The concentration of uric acid was done with commercial kits (Labtest[®]). The total excretion of purine derivatives was the result of urinary excretion of allantoin and uric acid.

Microbial purines absorbed (X , mmol d^{-1}) were calculated from the excretion of purine derivatives (Y , mmol d^{-1}): $Y=0.85 X+0.385 PV^{0.75}$, where 0.85 is the recovery of purines absorbed as purine derivatives and $0.385 PV^{0.75}$ is the endogenous contribution for purine excretion (Verbic *et al.*, 1990).

The intestinal flow of microbial nitrogenous compounds (N_{mic} , g N d^{-1}) was calculated from the microbial purines absorbed (P_{abs} , mmol d^{-1}): $N_{mic}=(70*P_{abs})/(0.83*0.116*1000)$, where 70 corresponds to the N content in purines ($\text{mg N}^{-1}\text{ mmol}$) and 0.83 is the digestibility of microbial purines; 0.116 is the N purine: N total rate of microorganisms in the rumen (Chen and Gomes, 1992).

The data were analyzed through ANOVA using the GLM procedure and when there was a significant effect ($p\leq 0.05$) for the treatment, a polynomial regression analysis was performed (SAS, 2004). The experimental design was a Latin Square 4×4 , with four treatments, four periods and four steers. The statistical model was:

$$Y_{ijk}=\mu+A_i+P_j+T_k+e_{ijk}$$

where Y_{ijk} =responses to treatment k , animal i , in period j ; μ =treatments mean; A_i =effect of the animal i , (1...4); P_j =effect of the period j , (1...4); T_k =effect of the treatment k , (1...4); e_{ijk} =residual error.

RESULTS AND DISCUSSION

The consumption of DM (DMC), OM, PC, NDF and NFC was not influenced by the treatments. The average DMC was $11.1\text{ kg of DM d}^{-1}$, which corresponds to 1.97 % of the live weight. In this regard, the inclusion of urea in the diet decreases the DMC compared with soy meal (Conrad *et al.*, 1977; Oliveira *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2001), which is why a higher DMC was expected with the addition of SRU. However, this was not observed probably because only 1.5 % of urea was used in the diets and the steers were well-adapted. These results coincide with those described by Galo *et al.* (2003) who did not observe differences in the DMC in dairy cows fed with SRU diets (0.77 % of the DM). But Pinos-Rodríguez *et al.* (2010) reported a decrease in the DMC in cattle when substituting soy meal (13.4 kg d^{-1}) with SRU (12.9 kg d^{-1}).

El promedio de CMS fue 11.1 kg de MS d^{-1} , correspondiente a 1.97 % del peso vivo. Al respecto, la inclusión de urea en la dieta disminuye el CMS comparada con la harina de soja (Conrad *et al.*, 1977; Oliveira *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2001), por lo cual se esperaba un mayor CMS con la adición de la ULL. Sin embargo, esto no ocurrió probablemente porque se usó sólo 1.5 % de urea en las dietas y los novillos estaban bien adaptados. Estos resultados coinciden con los descritos por Galo *et al.* (2003) quienes no observaron diferencias en el CMS en vacas lecheras alimentadas con dietas con ULL (0.77 % de la MS). Pero Pinos-Rodríguez *et al.* (2010) reportan una disminución en el CMS en bovinos al sustituir harina de soja (13.4 kg d^{-1}) por ULL (12.9 kg d^{-1}).

No hubo diferencias ($p > 0.05$) entre tratamientos para los coeficientes de digestibilidad aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) y total (CDT) de la MS, PC, EE y CNF (Cuadro 3). El flujo omasal de la MS, MO, PC y FDN presentó un efecto lineal decreciente ($p \leq 0.05$) al sustituir la urea por la ULL en la dieta, lo cual afectó directamente el CDR de la FDN ($p \leq 0.05$), que pasó de 30.0 (0ULL) a 35.3 % (100 ULL), pero esa respuesta no se mantuvo para el CDT de la FDN.

Puga *et al.* (2001) señalan un aumento significativo en la degradación de urea protegida en dietas altas en forraje, posiblemente debido a una mejor actividad de los microorganismos responsables de la fermentación de la fibra en el rumen. De acuerdo con Ørskov (1999), la digestibilidad es alta con niveles altos de fibra asociados a fuentes de urea de liberación lenta, pero el nivel de FDN en las dietas del presente estudio fue 36.6 %. Así, es probable que en dietas con mayor proporción de fibra las fuentes de NNP de liberación lenta tengan mayor efecto. Galo *et al.* (2003) reportan un aumento en la digestibilidad total de MS y PC en vacas en lactancia al usar ULL, lo cual corrobora esa hipótesis. Además, hay mayor CMS y digestibilidad de nutrientes en vacas lecheras alimentadas con dietas con urea revestida de poliuretano (Xin *et al.*, 2010). En esos dos estudios los porcentajes de FDN en las dietas experimentales fueron mayores a los del presente experimento. Pero en novillos alimentados con heno de baja calidad, el reemplazo de urea por ULL no cambió la degradación de la fibra (Azevedo *et al.*, 2010).

There were also no differences ($p > 0.05$) between treatments for coefficients of ruminal (ARD), intestinal (IRD) and total (TRD) apparent digestibility of the DM, PC, EE and NFC (Table 3). The omasal flow of DM, OM, PC and NDF presented a decreasing linear effect ($p \leq 0.05$) when substituting urea for SRU in the diet, which directly affected the ARD of the NDF ($p \leq 0.05$), which went from 30.0 (0SRU) to 35.3 % (100 SRU), but this response was not maintained for the TRD of the NDF.

Puga *et al.* (2001) point out a significant increase in the degradation of urea protected in diets high in fodder, possibly due to a better activity of the microorganisms responsible for fiber fermentation in the rumen. According to Ørskov (1999), digestibility is high with high levels of fiber associated to sources of slow release urea, but the level of NDF in the diets of this study was 36.6 %. Therefore, it is probable that in diets with higher proportion of fiber, the sources of slow release NPN could have a greater effect. Galo *et al.* (2003) report an increase in the total digestibility of DM and PC during lactation by using SRU, which corroborates this hypothesis. In addition, there is a higher DMC and digestibility of nutrients in dairy cows fed with diets with polyurethane-covered urea (Xin *et al.*, 2010). In these two studies the percentages of NDF in experimental diets were higher than those of this experiment. But in steers fed with low-quality hay, the urea replacement for SRU did not change fiber degradation (Azevedo *et al.*, 2010).

The addition of SRU did not change ($p > 0.05$) the rate of passage of liquids (Kp) (Table 4), whose mean value (9.38 % h^{-1}) was higher than the 6.7 % h^{-1} reported by Owens and Goetsch (1986) for diets with 50 to 80 % concentrate, but it was similar to that of 10.2 % h^{-1} in cattle that consumed a diet with the same proportion of fodder:concentrate used in this experiment (Bürger *et al.*, 2000).

The average rumen volume (RV) in this study was 91.16 L, which corresponds to 16.1 % of live weight and is within the mean values (15 to 21 % of the LW) proposed by Owens and Goetsch (1988) as normal RV in cattle. Highstreet *et al.* (2010) point out that there are no differences in the RV (45.2 to 48.6 L) when substituting urea with urea coated with fat in dairy cows. The retention time and rate of recycling was also not influenced ($p > 0.05$) by the substitution

Cuadro 3. Consumo (CON), flujo omasal (FO), flujo fecal (FF), coeficiente de digestibilidad aparente ruminal (CDR), intestinal (CDI) y total (CDT) de nutrientes, en función de los niveles de sustitución de la urea por la ULL.

Table 3. Intake (CON), omasal flow (FO), fecal flow (FF), coefficient of ruminal (CDR), intestinal (CDI) and total (CDT) apparent digestibility of nutrients, in function of the levels of substitution of urea for SRU.

Nutriente		Tratamientos				EEM [‡]
		0 ULL	33 ULL	66 ULL	100 ULL	
MS	CON (g d ⁻¹)	11309	11236	11085	10862	171.6
	FO (g d ⁻¹) [†]	6522	5628	5453	5140	282.8
	FF (g d ⁻¹)	4047	3948	3681	3796	235.0
	CDR	0.42	0.50	0.51	0.53	0.03
	CDI	0.38	0.30	0.31	0.26	0.04
	CDT	0.64	0.65	0.67	0.65	0.03
MO	CON (g d ⁻¹)	10542	10470	10319	10113	159.6
	FO (g d ⁻¹) [†]	5647	4897	4719	4440	254.0
	FF (g d ⁻¹)	3601	3509	3276	3374	201.8
	CDR	0.46	0.53	0.54	0.56	0.03
	CDI	0.36	0.28	0.31	0.24	0.04
	CDT	0.66	0.66	0.68	0.67	0.02
PC	CON (g d ⁻¹)	1408	1395	1381	1345	20.6
	FO (g d ⁻¹) [†]	1116	974	948	874	56.0
	FF (g d ⁻¹)	519	515	478	494	29.0
	CDR	0.20	0.30	0.31	0.35	0.05
	CDI	0.53	0.47	0.50	0.43	0.02
	CDT	0.63	0.63	0.65	0.63	0.03
FDN	CON (g d ⁻¹)	4128	4085	3971	3993	52.0
	FO (g d ⁻¹)	2881	2779	2654	2570	47.5
	FF (g d ⁻¹)	2558	2483	2283	2325	123.6
	CDR [†]	0.30	0.32	0.33	0.36	0.01
	CDI	0.11	0.11	0.14	0.10	0.04
	CDT	0.38	0.39	0.42	0.42	0.40
EE	CON (g d ⁻¹)	366	361	361	350	0.06
	FO (gd ⁻¹)	279	266	260	257	0.12
	FF (g d ⁻¹)	67	68	62	66	0.07
	CDR	0.23	0.26	0.27	0.26	0.04
	CDI	0.76	0.75	0.74	0.74	0.04
	CDT	0.81	0.81	0.83	0.81	0.02
CNF	CON (g d ⁻¹)	5065	5055	5053	4837	91.7
	FO (g d ⁻¹)	1320	853	952	667	168.3
	FF (g d ⁻¹)	457	442	453	489	76.5
	CDR	0.73	0.83	0.81	0.86	0.04
	CDI	0.60	0.07	0.44	0.08	0.34
	CDT	0.91	0.91	0.91	0.90	0.02

[†]Efecto lineal (p≤0.05) y ecuaciones de regresión para: flujo omasal de MS: $\hat{Y}=6766-431.9 X$; flujo omasal de MO: $\hat{Y}=5876-379.9 X$; flujo omasal de PC: $\hat{Y}=1166-75.3 X$; CDR de la FDN: $\hat{Y}=0.28+0.17 X$.
[‡]EEM=error estándar de la media \diamond [†]Linear effect (p≤0.05) and regression equations for: omasal flow of DM: $\hat{Y}=6766-431.9 X$; omasal flow of OM: $\hat{Y}=5876-379.9 X$; omasal flow of PC: $\hat{Y}=1166-75.3 X$; CDR of the FDN: $\hat{Y}=0.28+0.17 X$. [‡]EEM=standard error of the mean.

La adición de ULL no cambió ($p>0.05$) la tasa de pasaje de líquidos (Kp) (Cuadro 4) cuyo valor medio ($9.38 \% h^{-1}$) fue superior al de $6.7 \% h^{-1}$ reportado por Owens y Goetsch (1986) para dietas con 50 a 80 % concentrado, pero fue similar al de $10.2 \% h^{-1}$ en bovinos consumiendo una dieta con la misma proporción forraje:concentrado usada en el presente experimento (Bürger *et al.*, 2000).

El volumen ruminal (VR) medio en el presente estudio fue 91.16 L que corresponde a 16.1 % del peso vivo, y está dentro de los valores medios (15 a 21 % del PV) propuestos por Owens y Goetsch (1988) como VR normal en bovinos. Highstreet *et al.* (2010) señalan que no hay diferencias en el VR (45.2 a 48.6 L) al sustituir urea con urea protegida con grasa en vacas lecheras. El tiempo de retención y la tasa de reciclaje tampoco fue influenciada ($p>0.05$) por la sustitución de la urea convencional por ULL, lo cual confirma que la inclusión de urea protegida no afecta la cinética ruminal de la fase líquida.

Rumiantes alimentados con forrajes presentan mayores tasas de pasaje de la fase líquida que aquellos alimentados con concentrados, lo cual estaría relacionado con la mayor producción salivar (Bürger *et al.* 2000). De acuerdo con la mayor digestibilidad ruminal del FDN (Cuadro 4) se podría esperar una menor de pasaje de la fase líquida, menor volumen ruminal y menor tiempo de retención en el rumen en las dietas con mayor inclusión de ULL. Pero ese efecto no se observó probablemente porque los tratamientos no afectaron el consumo en los novillos y hubo una respuesta similar a las dietas en el rumen, lo cual se manifiesta por la eficiencia similar de síntesis microbiana (Cuadro 5).

El volumen urinario de un bovino adulto varía de 5 a 10 L d^{-1} (Gurtler *et al.*, 1987) y en el presente

of conventional urea for SRU, which confirms that the inclusion of protected urea does not affect the rumen kinetics of the liquid phase.

Ruminants fed with fodder present higher rates of passage of the liquid phase than those fed with concentrates, which would be related to a higher saliva production (Bürger *et al.*, 2000). According to the higher rumen digestibility of NDF (Table 4), a lower passage of the liquid phase could be expected, as well as lower rumen volume and lower retention time in the rumen of diets with higher inclusion of SRU. But this effect was not observed probably because the treatments did not affect the consumption in steers and there was a similar response to diets in the rumen, which is manifested by the similar efficiency in microbial synthesis (Table 5).

The urinary volume of an adult bovine varies from 5 to 10 L d^{-1} (Gurtler *et al.*, 1987) and in this study all the values were within this interval. Highstreet *et al.* (2010) did not observe differences in urine production when substituting urea for capsulated urea in the diet of dairy cows. There is a tendency for sources of NPN to reduce the volume of urine (Santos *et al.*, 2011), but this variable did not change in the present study, and these authors report that the volume of urine and the concentration of allantoin did not change in dairy cows fed with SRU in partial substitution of soy meal. Table 5 shows that the average production of allantoin was 184 mmol d^{-1} and there was no effect from treatments ($p>0.05$), which is similar to the report by Galo *et al.* (2003) who do not indicate that substitution of urea for SRU does not affect this variable.

The average urinary production of uric acid was 10.30 mmol d^{-1} (Table 5) and there was no difference between treatments. According to Chen

Cuadro 4. Cinética ruminal en función del nivel de sustitución de la urea por la ULL.

Table 4. Rumen kinetics in function of the level of substitution of urea for SRU.

Variables	Tratamientos				EEM [†]
	0 ULL	33 ULL	66 ULL	100 ULL	
Tasa de pasaje líquidos (% h^{-1})	10.00	9.20	8.68	9.62	0.62
Volumen ruminal (L)	90.91	89.56	90.88	93.28	4.27
Tiempo de retención (h)	10.39	11.14	11.93	10.52	0.84
Tasa de reciclaje (veces d^{-1})	2.40	2.21	2.08	2.31	0.15

[†]EEM=error estándar de la media ❖ [†]EEM=standard error of the mean.

Cuadro 5. Eficiencia de síntesis de proteína microbiana en función del nivel de sustitución de la urea por la ULL.**Table 5. Efficiency of microbial protein synthesis in function of the level of substitution of urea for SRU.**

Variables	Tratamientos				EEM [§]
	0 ULL	33 ULL	66 ULL	100 ULL	
Volumen urinario (L d ⁻¹)	8.49	7.49	8.35	8.52	0.8
Alantoína (mmol d ⁻¹)	178.62	182.82	185.15	187.80	11.4
Ácido úrico (mmol d ⁻¹)	10.04	10.06	11.50	9.62	1.1
Purinas totales (mmol d ⁻¹)	188.66	192.87	196.64	197.42	11.4
Purinas absorbidas (mmol d ⁻¹)	169.28	174.47	179.17	179.81	13.5
Nitrógeno microbiano (g d ⁻¹)	123.07	126.84	130.26	130.72	9.8
Eficiencia de síntesis [†]	160.49	162.21	171.88	167.75	12.0

[†]Eficiencia de síntesis=eficiencia de síntesis de proteína microbiana (g PC microbiana kg⁻¹ NDT consumido).

[§]EEM=error estándar de la media ❖ [†]Synthesis efficiency=efficiency of microbial protein synthesis (g PC microbial kg⁻¹ TDN consumed). [§]EEM=standard error of the mean.

estudio todos valores estuvieron en este intervalo. Highstreet *et al.* (2010) no observaron diferencias en producción de orina al sustituir urea por una urea encapsulada en la dieta de vacas lecheras. Hay una tendencia a que las fuentes de NNP reduzcan el volumen de orina (Santos *et al.*, 2011), pero esa variable no cambió en el presente estudio, y esos autores reportan que el volumen de orina y la concentración de alantoína no cambió en vacas lecheras alimentadas con ULL en sustitución parcial de harina de soya. En el Cuadro 5 se muestra que la producción media de alantoína fue 184 mmol d⁻¹ y no hubo efecto de los tratamientos ($p > 0.05$), lo cual es similar al reporte de Galo *et al.* (2003) quienes no indican que la sustitución de urea por ULL no afecta esta variable.

La producción urinaria media de ácido úrico fue 10.30 mmol d⁻¹ (Cuadro 5) y no hubo diferencia entre los tratamientos. Según Chen y Gomes (1992), la proporción de ácido úrico en los derivados de purinas (DP) varía de 15 a 20 % y es muy constante en el mismo animal, pero varía entre animales. En el presente experimento esas proporciones fluctuaron de 4.87 a 5.84 %. En Brasil, Castañeda *et al.* (2009), Chizzotti *et al.* 2006) y Rennó *et al.* (2000) reportan proporciones de ácido úrico menores a las propuestas por Chen y Gomes (1992).

La eficiencia de la síntesis de proteína microbiana observada en el presente experimento fue 166 g PCmic kg⁻¹ NDT consumido (Cuadro 5), y no hubo efecto de la inclusión de ULL. Este valor fue superior al propuesto por NRC (2000) de 130 g

and Gomes (1992), the proportion of uric acid in purine derivatives (PD) varies from 15 to 20 % and is very constant in the same animal, but varies between animals. In this experiment these proportions fluctuated from 4.87 to 5.84 %. In Brazil, Castañeda *et al.* (2009), Chizzotti *et al.* 2006) and Rennó *et al.* (2000) reported lower proportions of uric acid than those proposed by Chen and Gomes (1992).

The efficiency of microbial protein synthesis observed in this experiment was 166 g PCmic kg⁻¹ TDN consumed (Table 5), and there was no effect from the inclusion of SRU. This value was higher than the one proposed by the NRC (2000) of 130 g PCmic and the one calculated by Valadares *et al.* (2006) of 120 g PCmic in a meta-analysis of data for cattle in tropical conditions. Thus, it can be inferred that in all the treatments there was maximization of microbial synthesis and that under the conditions of this experiment the SRU did not present advantages as a substitute for urea in terms of this variable.

CONCLUSIONS

Using slow release urea in substitution of conventional urea in beef cattle diets improves the omasal flow of dry matter, organic matter, protein and apparent rumen digestibility of the NDF, but there are no changes in consumption and total digestibility of nutrients, rumen kinetics and synthesis of microbial protein.

—End of the English version—

PCmic y al calculado por Valadares *et al.* (2006) de 120 g PCmic en un meta análisis de datos para bovinos en condiciones tropicales. Así, se puede inferir que en todos los tratamientos hubo maximización de la síntesis microbiana y que en las condiciones de este experimento la ULL no presentó ventajas como sustituto de la urea respecto a esa variable.

CONCLUSIONES

La utilización de la urea de liberación lenta en sustitución de la urea convencional en la dieta de bovinos productores de carne mejora el flujo omasal de la materia seca, materia orgánica, proteína y la digestibilidad aparente ruminal de la FDN, pero no cambia en el consumo y digestibilidad total de los nutrientes, la cinética ruminal y la síntesis de proteína microbiana.

LITERATURA CITADA

- A.O.A.C. (Association of Official Agricultural Chemists). 1990. Official Methods of the Association of the Agricultural Chemists (15 Ed.). Arlington. 1298 p.
- Azevedo, E. B., H. Ospina-Patiño, A. L. F. Silveira, J. López, J. L. Nörnberg, e G. Brüning. 2010. Suplementação nitrogenada com ureia comum ou encapsulada sobre parâmetros ruminais de novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. *Ciência Rural* 40: 622-627.
- Barbosa, A. M., R. F. D. Valadares, S. C. Valadares F, R. M. L. Vêras, M. I. Leão, E. Detmann, M. F. Paulino, M. I. Marcondes, e M. A. Souza. 2006. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de ureia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. *Rev. Bras. Zootec.* 35: 870-877.
- Bürger, P. J., J. C. Pereira, J. F. C. Silva, S. C. Valadares F, P. R. Cecon, C. P. Jordão, e S. P. Braz. 2000. Taxas de passagem e cinética da degradação ruminal em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *Rev. Bras. Zootec.* 29: 225-235.
- Castañeda, R. D., A. F. Branco, S. M. Coneglian, J. C. Barreto, F. Granzotto, e S. Teixeira. 2009. Substituição de ureia por cloreto de amônio em dietas de bovinos: digestibilidade, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminais e sanguíneos. *Acta Scientiarum. Anim. Sci.* 31: 271-277.
- Chen, X. B., and M. J. Gomes. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. International feed research unit. Aberdeen: Rowett Research Institute 1 - 21.
- Chen, X. B., A. T. Mejia, D. J. Kyle, and E. R. Ørskov. 1995. Evaluation of the use of purine derivative: creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. *J. Agric. Sci.* 125: 137-143.
- Chizzotti, M. L., S. C. F. Valadares, R. F. D. Valadares, F. H. M. Chizzotti, J. M. S. Campos, M. I. Marcondes, e M. A. Fonseca. 2006. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. *Rev. Bras. Zootec.* 35: 1813-1821.
- Colucci, P. E., G. K. Macleod, W. L. Grovum, I. McMillan, and D. J. Barney. 1990. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *J. Dairy Sci.* 73: 2143-2156.
- Conrad, H. R., C. A. Baile, and J. Mayer. 1977. Changing meal patterns and suppression of feed intake with increasing amounts of dietary nonprotein nitrogen in ruminants. *J. Dairy Sci.* 60: 1725-1733.
- Firkins, J. L., Z. Yu, and M. Morrison. 2007. Ruminal nitrogen metabolism: Perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy. *J. Dairy Sci.* 90: 1-16.
- Fujihara, T., E. R. Orskov, P. J. Reeds, and D. J. Kyle. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *J. Agric. Sci.* 109: 7-12.
- Galo, E., S. M. Emanuele, C. J. Sniffen, J. H. White, and J. R. Knapp. 2003. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 2154-2162.
- Gürtler, H., H. A. Ketz, E. Kolb, H. A. Ketz, e H. Seidel. 1987. *Fisiologia Veterinária*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 612 p.
- Highstreet, A., P. H. Robinson, J. J. Robison, and G. Garrett. 2010. Response of Holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. *Liv. Prod. Sci.* 129: 179-185.
- Hungate, R. E. 1966. *The Rumen and its Microbes*. Academic Press, Inc. New York. pp: 1999-2001.
- Leão, M. I., S. C., Valadares F, L. N. Rennó, P. R. Cecon, J. A. G. Azevedo, L. C. Gonçalves, e R. F. D. Valadares. 2005. Consumos e digestibilidades totais e parciais de carboidratos totais, fibra em detergente neutro e carboidratos não-fibrosos em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. *Rev. Bras. Zootec.* 34: 670-678.
- Maeng, W. J., and R. L. Baldwin. 1976. Dynamics of fermentation of purified diet and microbial growth in the rumen. *J. Dairy Sci.* 59: 636-642.
- Myers, W. D., P. A. Ludden, V. B. Nayigihugu, and W. Hess. 2004. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *J. Anim. Sci.* 82: 179-183.
- NRC. 2000. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. Seventh revised edition. National Research Council. National Academy of Sciences. Washington, DC. USA. pp: 54-74.
- Oliveira, A. S., R. F. D. Valadares, S. C. Valadares F, P. R. Cecon, L. N. Rennó, A. C. Queiroz, e M. L. Chizzotti. 2001. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de ureia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. *Rev. Bras. Zootec.* 30: 1621-1629.
- Ørskov, E. R. 1999. Supplement strategies for ruminants and management of feeding to maximize utilization of roughages. *Preventive Vet. Med.* 38: 179-185.

- Owens, F. N., and A. L. Goetsch. 1986. Ruminal fermentation. In: Church, D. C. (ed). The Ruminant Animal Digestive Physiology and Metabolism. Prentice Hall, New Jersey. pp: 145-171.
- Pinos-Rodríguez, J. M., L. Y. Peña, S. S. González-Muñoz, R. Bárcena, and A. Salem. 2010. Effects of a slow-release coated urea product on growth performance and ruminal fermentation in beef steers. Italian J. Anim. Sci. 9: 16-19.
- Puga, D. C., H. M. Galina, R. F. Perez-Gil, G. L. Sanginés, B. A. Aguilera, and G. F. Haenlein. 2001. Effect of a controlled release urea supplement on rumen fermentation in sheep fed a diet of sugar cane tops (*Saccharum officinarum*), corn stubble (*Zea mays*) and King grass (*Pennisetum purpureum*). Small Ruminant Res. 39: 269-276.
- Rennó, L. N., R. F. D. Valadares, M. I. Leão, S. C. F. Valadares, J. F. C. Silva, P. R. Cecon, H. L. C. Dias, M. A. L. Costa, e R. V. Oliveira. 2000. Estimativa da produção de proteína pelos perivados de purinas na urinaem novilhos. Rev. Bras. Zootec. 29: 1223-1234.
- Santos, J.F., L. L. Dias Jr., N. M. Bitencourt, S. Lopes, J. R. M. Siécola Jr., R. A. N. Silva, e M. N. Pereira. 2011. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada, Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 63: 423-432.
- SAS. 2004. Statistical Analysis System. Version 9.1. Cary, North Carolina: SAS Institute.
- Satter, L. D., and R. E. Roffler. 1975. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. J. Dairy Sci. 58: 1219-37.
- Silva, R. M. N., R. F. D. Valadares, S. C. Valadares F, P. R. Cecon, J. M. S. Campos, G. A. Oliveira, e A. S. Oliveira. 2001. Ureia para vacas em lactação. I. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. Rev. Bras. Zootec. 30: 1639-1649.
- Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, and P. J. Van Soest. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci. 70: 3562-3577.
- Souza, V. L., R. Almeida, D. F. F. Silva, P. R. B. Piekarski, C. P. Jesus, e M. N. Pereira. 2010. Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição do leite. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 62: 1415-1422.
- Taylor-Edwards, C. C., G. Hibbard, S. E. Kitts, K. R. McLeod, D. E. Axe, E. S. Vanzant, N. B. Kristensen, and D. L. Harmon. 2009. Effects of slow-release urea on ruminal digesta characteristics and growth performance in beef steers. J. Anim. Sci. 87: 200-208.
- Uden, P., P. E., Collucci, and P. J. Van Soest. 1980. Investigation on chromium, cerium and cobalt as markers in ingest. Rate passage studies. J. Sci. Food Agric. 31: 625-632.
- Valadares Filho, S. C., P. V. R. Paulino, e K. A. Magalhães. 2006. Exigências Nutricionais de Zebuínos e Tabelas de Composição de Alimentos BR-CORTE. Viçosa, MG: UFV, DZO, 142 p.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis, 1991. Symposium: Carbohydrates methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.
- Verbic, J., X. B. Chen, N. A. Macleod, and E. R. Ørskov. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. J. Agric. Sci. 114: 243-246.
- Xin, H.S., D.M. Schaefer, Q. P. Liu, D. E. Axe, and Q. X. Meng. 2010. Effects of polyurethane coated urea supplement on in vitro ruminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of Holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. Asian Austr. J. Anim. Sci. 23: 491-500.