

## Nutrição aminoacídica de bovinos leiteiros

**Victor Marco Rocha Malacco<sup>1</sup>, Ronaldo Braga Reis<sup>2</sup>, Camila Flávia de Assis Lage<sup>1</sup>, Isabella Cristina de Faria Maciel<sup>1</sup>, Rafael Silveira Gomes<sup>1</sup>, Thiago Campos Escarce<sup>3</sup>**

### Resumo

O estudo do metabolismo das proteínas nos ruminantes tem merecido bastante atenção, pois a adoção de dietas com baixos teores de N é utilizada para aumentar a eficiência da utilização de nitrogênio pelo animal e aumentar a rentabilidade do sistema. O aumento da eficiência de utilização do N pode melhorar a economia do sistema de produção, reduzir o impacto ambiental e diminuir a demanda por fontes protéicas na alimentação animal. A exigência real dos ruminantes é por aminoácidos e não por proteína bruta. O conhecimento atual é demasiadamente limitado para que se possa criar um modelo que estime a exigência de cada aminoácido essencial, e diferentemente do que acontece na nutrição de monogástricos nos quais a deficiência de determinado aminoácido pode ser suprida com a simples inclusão na dieta, na nutrição de ruminantes ocorre a degradação ruminal. A alteração desse aminoácido muda a composição da digesta que chega ao intestino delgado devido à transformação de aminoácido em proteína microbiana. A maximização da síntese de proteína microbiana no rúmen leva ao maior aporte de aminoácidos para o intestino delgado, conseqüentemente maior produção de leite, ganho de peso e crescimento, porém os recursos para maximizar esse aporte também possuem dificuldades.

**Palavras-chave:** Aminoácidos. Degradabilidade. Digestibilidade. PDR. PNDR. Proteína microbiana.

### Introdução

O nitrogênio (N) é o elemento chave da estrutura dos aminoácidos (aa) e conseqüentemente, das proteínas. O estudo do metabolismo das pro-

<sup>1</sup>Alunos de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG, e-mail: malacco.victor@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG

<sup>3</sup>Graduando em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG.

teínas nos ruminantes tem merecido bastante atenção, pois dos poluentes de origem agroindustrial, o nitrogênio excretado é considerado o mais impactante. Pode contaminar o ar, água, afetar a biodiversidade e a saúde humana, o que conduz a grande pressão dos órgãos ambientais para a redução do N no ambiente. A adoção de dietas com baixos teores de N objetiva aumentar a eficiência da utilização de nitrogênio pelo animal e a rentabilidade do sistema, já que alimentos protéicos são os que mais oneram os custos alimentares na fazenda produtora de leite. Aumentar a eficiência de utilização do N melhoraria a economia do sistema de produção, reduziria o impacto ambiental e a demanda por fontes protéicas para alimentação dos animais (ARRIOLA APELO *et al.*, 2014a). A exigência real dos ruminantes, assim como dos demais animais, é por aminoácidos e não por proteína bruta, ou seja, proteína metabolizável. A evolução dos estudos sobre a nutrição protéica de ruminantes tem sido direcionada para dietas com baixo teor proteína bruta (PB). No entanto os modelos mostram que dietas de baixos teores de PB, tendo como principais ingredientes o milho e o farelo de soja são incapazes de fornecer teores adequados de lisina (Lis) e metionina (Met) na proteína metabolizável para sustentar a máxima secreção da proteína no leite.

O uso de dietas com baixos teores de PB e a suplementação com aminoácidos essenciais (AAE) pode reduzir a excreção de N para o ambiente e, dependendo do custo da dieta reformulada, ser mais econômica (ARRIOLA APELO *et al.*, 2014b; NATIONAL, 2001).

O objetivo desta revisão de literatura foi buscar informação sobre a nutrição aminoacídica em bovinos leiteiros e seu impacto sobre a produção de leite.

## **Desenvolvimento do texto**

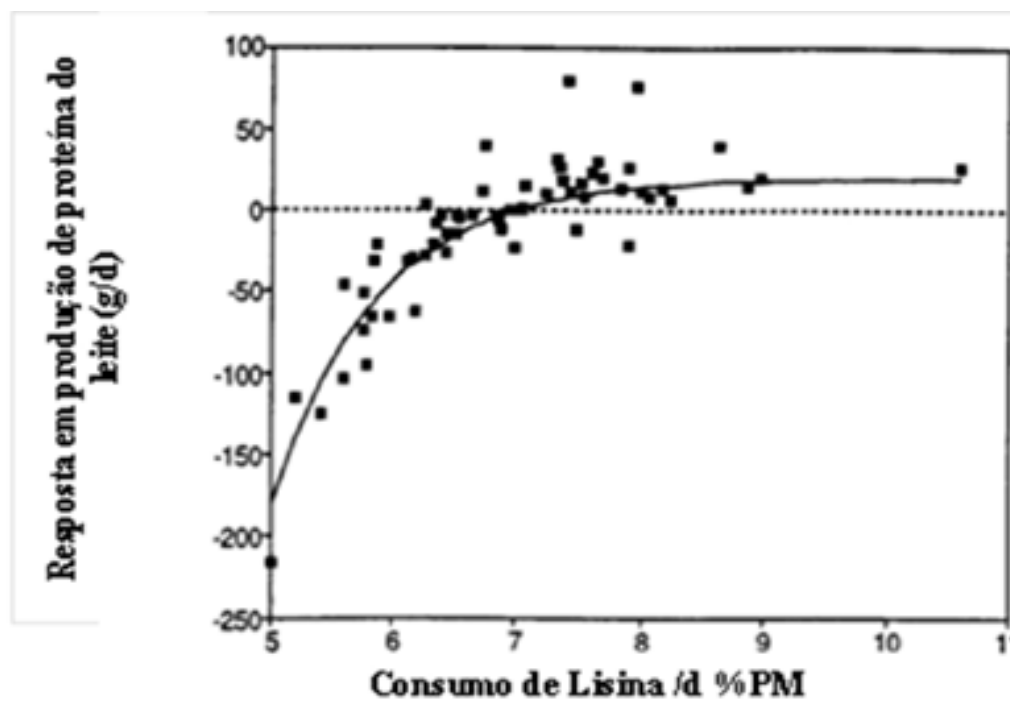
### **Exigências de aminoácidos para vacas leiteiras**

O conhecimento atual é demasiadamente limitado para que se possa criar um modelo que estime a exigência de cada aminoácido essencial. É sabido que aproximadamente 15 a 20% da proteína que chega ao intestino, proteína metabolizável (PM), é de origem endógena (OUELLET, 2002) o que não pode ser ignorado ao se calcular o fluxo de proteína microbiana e de proteína não degradável no rúmen (PNDR). Ao se calcular a real exigência de vacas leiteiras por aminoácidos deve-se ainda levar em consideração a perda de aminoácidos por oxidação intestinal que pode chegar a 35% (LAPIERRE *et al.*, 2006).

Os requisitos específicos para Lisina e Metionina estabelecidos pelo National... (2001) são avaliados como proporção da proteína metabolizável

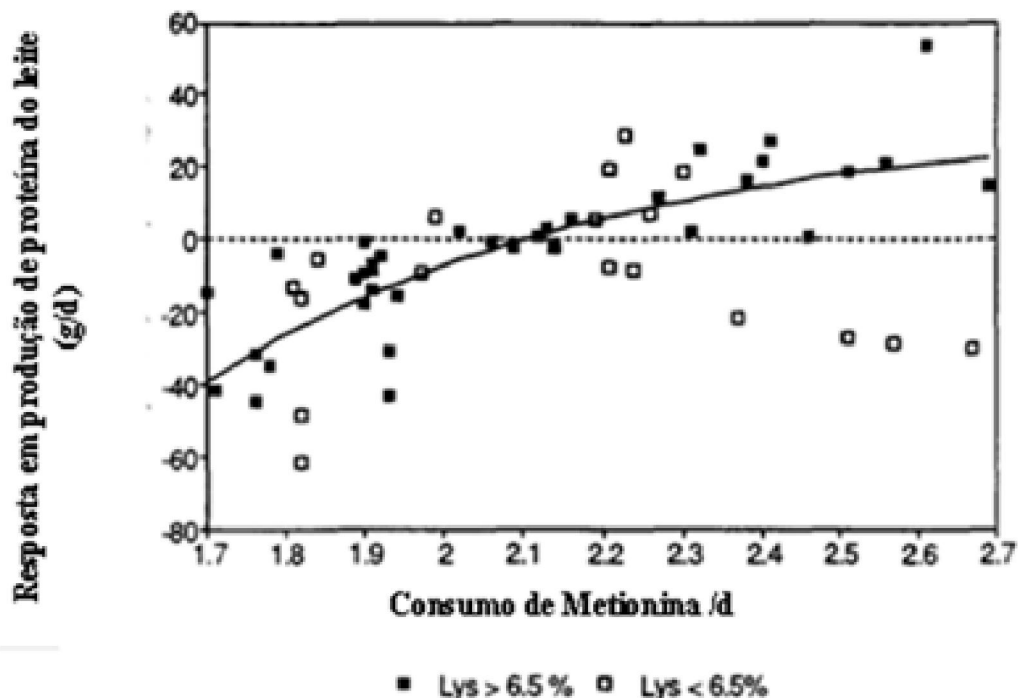
requerida. Isso anula a necessidade de se conhecer a quantidade exata de cada AAE necessário e ainda pode ser um método para identificar AAE que provavelmente são limitantes em dietas com base em suas proporções na PM (ARRIOLA APELO *et al.*, 2014b). Segundo Schwab (2007) a abordagem aceita é o método da curva de resposta indireta proposto pela primeira vez por RULQUIN e VERITE (1993). Esse método possui a vantagem de determinar os requisitos de forma interdependente, uma vez que são estimados em função da dose-resposta. É necessário estimar o fornecimento de Lis e Met na PM para otimizar a secreção de proteína no leite. Utilizando o método de dose resposta, o National... (2001), considera como ótimos os teores de 6,83 e 2,28 % da PM para Lis e Met, respectivamente. É importante que seja mantida a relação de lisina/metionina em 3:1, mesma relação desses aminoácidos na proteína do leite (FIGURAS 1 e 2).

Figura1 - Resposta em produção de proteína do leite com base no percentual de proteína metabolizável no duodeno. Respostas em função da concentração de lisina duodenal. As respostas foram relacionados com o rendimento de referência, calculada à concentração de lisina absorvível de 7,0 %.



Fonte: Adaptado WHITEHOUSE *et al.*, 2009.

Figura 2 - Resposta em produção de proteína do leite com base no percentual de proteína metabolizável no duodeno. Respostas em função da concentração de metionina duodenal (% PDI) . As respostas foram relacionadas com o rendimento de referência, calculada à concentração de metionina absorvível de 2.1%.



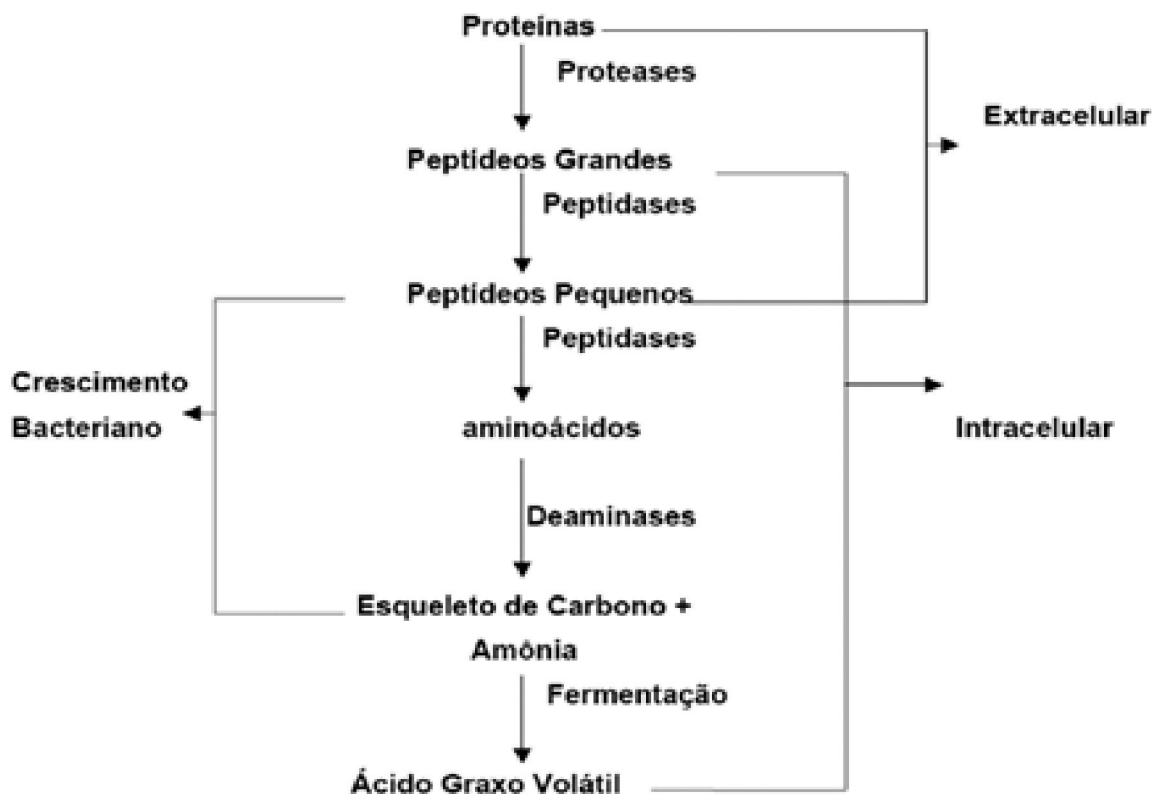
Fonte: Adaptado WHITEHOUSE *et al.*, 2009.

### Degradabilidade ruminal da proteína

A degradação ruminal da proteína é um processo que envolve solubilização, hidrólise extracelular, transporte para o interior da célula, deaminação e a formação dos produtos finais (amônia, AGV, dióxido de carbono e metano). O termo fermentação refere-se somente aos dois últimos passos (RUSSEL *et al.*, 1991) e o termo digestão refere-se aos demais componentes (VALADARES FILHO, 1995). Portanto, fermentação e digestão são componentes distintos de um processo único, a degradação (FIGURA 3). Todos os microrganismos ruminais parecem estar envolvidos no complexo sistema da degradação protéica ruminal. A extensão e a velocidade de degradação da proteína no rúmen estão diretamente relacionadas à eficiência da utilização do nitrogênio pela flora ruminal. Quando a degradação da proteína excede a taxa de assimilação dos aminoácidos e da amônia, ocorre aumento excessivo na concentração de amônia no rúmen. A amônia então pode ser removida do ambiente ruminal, principalmente via difusão, podendo posteriormente retornar ao rúmen ou ser perdida como uréia através da urina, fezes e leite

(RUSSEL *et al.*, 1991). Além disso, alguns dos peptídeos e aminoácidos não incorporados na proteína microbiana podem escapar da degradação ruminal e se transformar em fonte de PNDR para o animal (NATIONAL...,2001).

Figura 3 - Processo sequencial de degradação da proteína por bactérias no rúmen.



Fonte: COTTA e HESPELL, 1986.

A degradação ruminal de proteínas é descrita por vários modelos. No modelo adotado pelo National... (2001) a fração A representa o NNP (nitrogênio não protéico) acrescida de uma pequena porção da proteína verdadeira de alta solubilidade ou de tamanho pequeno que escapam dos sacos de náilon. Esta fração é 100% degradável no rúmen e é obtida no tempo zero de incubação. Já a fração C é não degradável no rúmen, passando direto para o intestino delgado. Ela é composta do resíduo que permanece nos sacos de náilon após 48 horas de incubação, no caso dos concentrados, ou 72 horas para as forragens. A fração B é a fração potencialmente degradável no rúmen, obtida pela diferença  $(100 - (A+C))$ , sendo a única fração afetada pela taxa de passagem da digesta. A proporção da fração B que será degradada no rúmen depende da taxa de degradação ( $K_d$ ) e da taxa de passagem ( $K_p$ ). Sendo assim, os valores de proteína degradável no rúmen (PDR) e PNDR

dos alimentos segundo este modelo são obtidos pelas seguintes equações:

$$\text{PDR} = A + B \left[ \frac{K_d}{K_d + K_p} \right]$$

$$\text{PNDR} = B \left[ \frac{K_p}{K_d + K_p} \right] + C$$

Outro modelo utilizado para descrever a cinética da degradação ruminal das proteínas é o Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CN-CPS). Nesse modelo utiliza reagentes químicos para determinação da PDR e PNDR dos alimentos. A PB é dividida em cinco frações: A, B1, B2, B3 e C. Esse sub fracionamento da proteína bruta foi descrito por SNIFFEN *et al.* (1992). Essas cinco frações apresentam  $K_d$  diferentes, e a taxa de desaparecimento do rúmen está em função de dois eventos simultâneos,  $K_d$  e a  $K_p$ . A fração A é composta principalmente de nitrogênio não proteico (NNP) e é solubilizada instantaneamente, no tempo zero. Assume-se que esta fração tem  $K_d$  infinito. Ela é solúvel em solução de borato-fosfato e não precipita em ácido tricloroacético (TCA). A fração C não é degradada no rúmen e é considerada como a fração insolúvel em detergente ácido. Contém proteínas associadas a ligninas, taninos, e as indisponíveis por reações, como a de Maillard. Já as frações B1, B2 e B3 representam proteínas verdadeiras potencialmente degradáveis no rúmen. A quantidade de cada uma das frações que é degradada no rúmen é produto da  $K_d$  e da  $K_p$ , porém um único valor de  $k_p$  é adotado para todas as frações. As taxas de degradação das frações B1, B2 e B3 são aproximadamente 120 a 400%  $h^{-1}$ , 3 a 16%  $h^{-1}$  e 0,06 a 0,55%  $h^{-1}$ , respectivamente (NATIONAL..., 2001). A fração B1 é a fração da PB solúvel em solução de tampão borato-fosfato, mas que se precipita com TCA. A fração B3 é calculada como a diferença entre a fração da PB recuperada no FDN e recuperada no FDA (fração C). Já a fração B2 é calculada por diferença entre a PB e as outras frações ( $B_2 = PB - A - B_1 - B_3$ ). Sendo assim, as frações PDR e PNDR dos alimentos segundo o modelo CN-CPS são determinadas pelas seguintes equações:

$$\text{PDR} = A + B_1 \left[ \frac{k_{dB1}}{k_{dB1} + k_p} \right] + B_2 \left[ \frac{k_{dB2}}{k_{dB2} + k_p} \right] + B_3 \left[ \frac{k_{dB3}}{k_{dB3} + k_p} \right]$$

$$\text{PNDR} = B_1 \left[ \frac{k_p}{k_{dB1} + k_p} \right] + B_2 \left[ \frac{k_p}{k_{dB2} + k_p} \right] + B_3 \left[ \frac{k_p}{k_{dB3} + k_p} \right] + C.$$

A taxa de passagem da digesta também está relacionada diretamente com a ingestão de matéria seca, quanto maior a ingestão maior a taxa de passagem, o que altera as frações protéicas da dieta.

### Digestibilidade intestinal da PNDR

A digestibilidade intestinal da PNDR é comumente estimada através

da técnica do saco de náilon móvel (VALADARES FILHO, 1997) segundo o procedimento dos três passos proposto por Casamiglia e Stern (1995). Esse procedimento simula todo o processo de digestão intestinal após incubação ruminal do material em saquinhos por 16 h, adotando valores fixos para cada alimento ou considerando que as frações B1, B2 e B3 que escapam da degradação ruminal têm digestibilidades constantes de 100, 100 e 80% (SNIFFEN *et al.*, 1992) ou ainda sendo 0,9 (PNDR - 6,25 NIDA), em que NIDA é o nitrogênio insolúvel em detergente ácido, conforme AFRC (1993). O NATIONAL... (2001) adota valores variáveis para a digestibilidade da proteína não degradável de cada alimento, valor anteriormente considerado como de 80% pelo NATIONAL... (1989).

### **Produção e digestibilidade intestinal da proteína microbiana**

A proteína microbiana é a principal fonte de PB que passa para o intestino delgado (ID). A energia e a disponibilidade de N são os fatores mais limitantes do crescimento microbiano no rúmen (CLARK *et al.*, 1992). Dessa forma a maximização da síntese de proteína microbiana no rúmen leva ao maior aporte de AA para o ID e com isso aumento na produção de leite. Segundo estes autores, se as dietas forem formuladas de modo a complementar a proteína microbiana que chega ao ID com AA que escapam da fermentação ruminal, torna-se necessário que se conheça a quantidade e a composição dessa proteína microbiana. Indicadores microbianos como os derivados de purina e indicadores externos como  $^{15}\text{N}$  são utilizados para se estimar a produção de proteína microbiana (BRODERICK; MERCHEN, 1992; ZINN; OWENS, 1985). No entanto esses pesquisadores alertaram que a relação Purinas:N, para se estimar protozoários, é aproximadamente a metade da utilizada para se estimar outros microrganismos, sendo o fluxo total subestimado. Alertam também para a necessidade de se considerar que as purinas alimentares são completamente degradadas no rúmen. Apesar da existência de variação na composição de aminoácidos na proteína microbiana os valores fixos são, na prática, amplamente utilizados. A digestibilidade intestinal da proteína microbiana segundo o National... (2001) é de 80 % assumindo-se uma composição de 80% de proteína verdadeira. O CNCPS assume que os microrganismos ruminais possuem 60% de proteína bruta disponível para absorção (RUSSEL, 1992).

### **Suplementação com aminoácidos**

Diferentemente do que acontece na nutrição de monogástricos nos quais a deficiência de determinado aminoácido pode ser suprida com a sim-

ples inclusão na dieta, na nutrição de ruminantes quando simplesmente adicionam-se aminoácidos a dieta eles são rapidamente degradados no rúmen. A degradação desses aminoácidos muda a composição do que chega ao intestino delgado o que ocorre devido a digestão desses aminoácidos no rúmen dando origem a proteína microbiana e também por sua rápida degradação (LAPIERRE *et al.*, 2006). Dessa forma a suplementação de aminoácidos na dieta de ruminantes deve ser feita utilizando aminoácidos protegidos da degradação ruminal, mas que sejam digeridos no intestino delgado ou por formas químicas que possibilitem absorção mais rápida pela parede ruminal (Hidroxi Análogos).

A predição do fluxo de aminoácidos essenciais digestíveis avaliado por Pacheco *et al.* (2012) através do aparecimento portal líquido mostrou que, na média, o National... (2001) atua excepcionalmente bem na predição de fluxo intestinal de lisina e metionina, seguido pelos modelos Amino Cow e CNCPS.

Teores ótimos de Lis e Met estabelecidos pelo National... (2001) tem como objetivo aumentar a síntese de proteína do leite. No entanto, tais teores normalmente não podem ser alcançados na prática principalmente em dietas à base de milho, nas quais é difícil alcançar teores de lisina superiores a 6,7% da PM. Assim, os níveis práticos de formulação são 6,66 e 2,22 para Lis e Met como % da PM, respectivamente. É importante salientar que os teores desejados na PM de Met vão depender do teor de Lis que pode ser alcançado. O primeiro passo é o de aumentar os teores de Lis em % do PM e então equilibrar o teor de metionina para manter uma relação de 3:1 que melhora a eficiência de utilização da PM e evita a superalimentação de Met. Primeiramente, a dieta dos animais deve ser calculada utilizando ingredientes selecionados com o objetivo de potencializar a síntese de proteína microbiana uma vez que, esta possui excelente perfil de AA e concentrações ótimas de Lis e Met. A alimentação deve ser equilibrada entre carboidratos facilmente fermentáveis e fontes de FDN de boa digestibilidade. Sugere-se que a proteína microbiana represente pelo menos 50% da proteína metabolizável, o restante será oriundo de fontes endógenas e da PNDR. Todas as fontes de PNDR têm concentrações mais baixas de Lis ou Met ou de ambos em relação à proteína microbiana. Farelo de soja e produtos de soja protegidos tem maiores teores do que as concentrações médias de Lis (6,2% da PB) e sua incorporação na ração podem ser úteis (SCHWAB, 2014).

Considerando a elevada degradação da maior parte dos AA nas doses de aplicação recomendadas, inúmeros trabalhos têm sido desenvolvidos com AA protegidos da degradação ruminal (BRODERICK *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2012; OSORIO *et al.*, 2013; ARRIOLA E APELLO, 2014). Os princi-



países métodos usados pela indústria para proteger os AA são: 1) produção de AA análogos (Metionina hidróxi-análoga; Hidroximetil DLMetionina cálcica; Monoplus di-N-Hidroximetil-L-Lisina cálcica, etc.), que são mais estáveis nas condições de rúmen; 2) recobrimento com gordura, misturas de gorduras e proteínas, proteínas tratadas com formaldeído ou sabões cálcicos de ácidos graxos de cadeia longa; 3) encapsulamento com compostos poliméricos resistentes à degradação ruminal, mas que são hidrolisados no abomaso (ALVES, 2004).

Os produtos mais eficazes para o aumento das concentrações de Met na PM são Smartamine<sup>®</sup> M, Mepron M85<sup>®</sup> e Metasmart<sup>®</sup>. O Metasmart<sup>®</sup> é o éster isopropílico do ácido hidroximetil butanóico (HMB) e possui a vantagem de ser peletizável, o que não é viável com qualquer uma das tecnologias de Met encapsuladas (Smartamine<sup>®</sup> M e Mepron M85<sup>®</sup>). São disponíveis no mercado algumas fontes de Lisina protegida, entre elas estão AjiProl-L<sup>®</sup>, Lysipearl<sup>®</sup>, Lysine 35<sup>®</sup>, Megamine -L<sup>®</sup>, MetaboLys<sup>®</sup> (SCWAB, 2014).

As fontes de Lis e Met protegidas da degradação ruminal são essenciais para atingir as recomendações práticas para Lis e Met na PM. Os produtos protegidos devem ser utilizados na dieta de acordo com a necessidade, não apenas incluídas com valores fixos. Por serem fontes metabolizáveis de AA concentrados devem ser oferecidos juntamente aos demais ingredientes convencionais disponíveis, objetivando o melhor custo e a formulação adequada. Deve-se ter conhecimento da degradabilidade intestinal dos produtos e sua biodisponibilidade. Noftsgger *et al.* (2005) mostraram que a proporção de HMB ingerido que escapa do rúmen é de apenas 5%, já a passagem de HMB quando os animais são suplementados com ácido hidroximetil butanóico indigestível (HMBi) chega a 50%. As diferenças na degradabilidade do HMB e HMBi foram evidenciadas nas mudanças na concentração de proteína do leite e produção observados com HMBi, mas não com HMB. Segundo DINN *et al.* (2008) no Smartamine<sup>®</sup> 100% da Lis e 94% da metionina foram protegidas.

A suplementação com aminoácidos se mostrou especialmente importante em manter a produção de leite e sólidos em dietas de baixa proteína bruta (BRODERICK *et al.*, 2008). RULQUIN (1992) concluiu que a suplementação com Met e Lis aumenta a proteína do leite (0,5 - 1,0 g kg<sup>-1</sup>) e a produção total de proteína (50 a 70g dia<sup>-1</sup>). Recentes meta-análises tem mostrado pequenos, mas consistentes aumentos na produção de leite e ingestão de matéria seca com adição dietética de suplementos de AA, particularmente de Met (PATTON, 2010; ROBINSON, 2010). LEE *et al.* (2012) mostrou aumento no consumo de matéria seca acompanhado pelo aumento na produção de leite especialmente quando os três aminoácidos essenciais (Lis, Met e His)

foram suplementados.

### Considerações finais

A proteína microbiana possui melhor perfil de aminoácidos por isso, a maximização da sua produção é necessária antes de qualquer ajuste com suplementação de aminoácidos nas dietas.

A utilização de aminoácidos na dieta de vacas só deve ser realizada em dietas de baixa proteína bruta, uma vez que nesses casos existe uma limitação na quantidade de aminoácidos essenciais que chegam ao intestino delgado.

A suplementação com aminoácidos protegidos podem aumentar a produção de leite e seus componentes.

### Referências

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL (AFRC). **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford: CAB international, 1993. 159 p.

AGUERRE, M. J.; WATTIAUX, M. A.; HUNT, T.; LARGET, B. R. Effect of dietary crude protein on ammonia-N emission measured by herd nitrogen mass balance in a freestall dairy barn managed under farm-like conditions. **Animal**, v. 4, p. 1390-1400, 2010.

ALVES, D. D. Nutrição Aminoacídica de Bovinos. **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v.10, n.3, p.265-271, 2004.

ARRIOLA APELO, S. I.; BELL, A. L.; ESTES K.; ROPELEWSKI J.; DE VETH M. J.; HANIGAN, M.D. Effects of reduced dietary protein and supplemental rumen-protected essential amino acids on the nitrogen efficiency of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 9, p. 5688-5699, 2014a.

ARRIOLA APELO, S. I.; KNAPP, J. R.; HANIGAN, M. D. Invited review: Current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow. **Journal Dairy Science**, v. 97, p. 4000-4017, 2014b.

BRODERICK G. A.; STEVENSON, M. J.; PATTON R. A.; LOBOS, N. E.; OLMOS COLMENERO, J.J. Effect of supplementing rumen-protected methionine on production and nitrogen excretion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91 p. 1092-1102, 2008.

BRODERICK, G. A.; MERCHEN, N.R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 9, p. 2618-2632, 1992.

CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 5, p. 1459-1465, 1995.

CLARK, J. M.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M. R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2304-2323, 1992.

COTTA, M. A.; HESPELL, R. B. **Protein and amino acid metabolism of rumen bacteria.** In: CROWDER, L.V.; CHHEDA, H. R. Tropical grassland husbandry. New York: Longman, 1982. 562p.

DINN, N. E.; SHELFORD, J. A.; FISHER, L. J. Use of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81 p. 229-237, 2008.

DOEPEL, L.; LAPIERRE, E. H. Changes in production and mammary metabolism of dairy cows in response to essential and nonessential amino acid infusions. **Journal of Dairy Science**, v. 93 p. 3264-3274, 2010.

GIALLONGO, F.; HRISTOV, A.N.; OH, J.; FREDERICK, T.; WEEKS, H.; WERNER, J.; LAPIERRE, H.; PATTON, R. A.; GEHMAN, A.; PARYS, C. Effects of slow-release urea and rumen-protected methionine and histidine on performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 5688-5699, 2015.

HRISTOV, A. N.; VARGA, G.; CASSIDY, T.; LONG, M.; HEYLER, K.; KARNATI, S. K. R.; CORL, B.; HOVDE, C. J.; YOON, I. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 682-692, 2010.

LAPIERRE, H., PACHECO, D.; BERTHIAUME, R.; OUELLET, D. R. ; SCHWAB, C. G.; DUBREUIL, P.; HOLTROP, G.; LOBLEY, G. E. What is the true supply of amino acids? **Journal of Dairy Science**, v. 89 (E Suppl.): E1-E14, 2006.

LAPIERRE, H.; LOBLEY, G. E.; DOEPEL, L.; RAGGIO, G.; RULQUIN, H.; LEMOSQUET, S. Mammary metabolism of amino acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1708-1721, 2012.

LEE, C.; HRISTOV, A. N.; CASSIDY, T. W.; HEYLER, K. S.; LAPIERRE, H.; VARGA, G. A.; DE VETH, M. J.; PATTON, R. A.; PARYS, C. Rumen-protected lysine, methionine, and histidine increase milk protein yield in dairy cows fed a metabolizable protein-deficient diet. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 6042-6056, 2012a.

LEE, C., A. N. HRISTOV, K. S. HEYLER, T. W. CASSIDY, H. LAPIERRE, G. A. VARGA, AND C. PARYS. Effects of metabolizable protein supply and amino acid supplementation on nitrogen utilization, milk production, and ammonia emissions from manure in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 5253-5268, 2012b.

MORAIS JÚNIOR, N. N. **Suplementação de vacas leiteiras com análogo de metionina e proteína de soja.** 2013. 132p. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** 7. ed. revised edition National. Acad. Science, Washington DC, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 6. ed. Washington: National Academy Press, 1989, 157p.

NOFTSGER, S.; ST-PIERRE, N. R.; SYLVESTER, J. T. Determination of rumen degradability and ruminal effects of three sources of methionine in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 223-237, 2005.

OSORIO, J. S.; JI, P.; DRACKLEY, J. K.; LUCHINI, D.; LOOR, J. J. Erratum to "Supplemental Smartamine M or MetaSmart during the transition period benefits postpartal cow performance and blood neutrophil function" **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 6248-6263, 2013.

OUELLET, D. R.; DEMERS, M.; ZUUR, G.; LOBLEY, G. E.; SEOANE, J. R.; NOLAN, J. V.; LAPIERRE, H. Effect of dietary fiber on endogenous nitrogen flows in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 3013-3025, 2002.

PACHECO, D.; PATTON, R. A.; PARYS, C.; LAPIERRE H. Ability of commercially available dairy ration programs to predict duodenal flows of protein and essential amino acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 937-963, 2012.

PATTON, R. A. Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 93 p. 2105-2118, 2010.

ROBINSON, P. H. Impacts of manipulating ration metabolizable lysine and methionine levels on the performance of lactating dairy cows: A systematic review of the literature. **Livestock Science**, v. 127, p. 115-126, 2010.

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

RUSSEL, J. B.; ONODERA, R.; HINO, T. Ruminal protein fermentation: new perspectives on previous contradictions. In: TSUDA, T., SASAKI, Y. (Ed.) **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. New York: Academic Press, 1991. p. 682-697.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOESTT, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I - Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.

SANTOS, J. **Feeding Rumen-Protected Choline to Transition Dairy Cows**. University of Florida IFAS Publication, 2009.

SCHWAB, C. G.; BOUCHER, S. E.; SLOAN, B. K. Metabolizable protein and amino acid nutrition of the cow: Where are we in 2007? In: **Proceedings of the 68th Annual Minnesota Nutrition Conference**, p. 121-138, 2007.

SCHWAB, C. G.; HIGGS, R. J.; FOSTER, G. N. Opportunities for the next dairy NRC committee to improve amino acid feeding recommendations for cows. In **Proceedings of the 29th Annual Southwest Nutrition and Management Conference**. Tempe, Arizona. University of Arizona. P. 88-111, 2014.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J. FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

VALADARES FILHO, S. C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV-DZO, 1995, p. 355-388.

WHITEHOUSE, N.; SCHWAB, C.; LUCHINI, D.; TYLUTKI, T.; SLOAN, B. Comparison of optimal lysine and methionine concentrations in metabolizable protein estimated by the NRC (2001), CPM-Dairy (v. 3.0.10) and AMTS.Cattle (v. 2.1.1) models. **Journal of Dairy Science**, v. 92 (Suppl. 1) p.103, (Abstr.) 2009.

ZINN, R. A.; OWENS, F. N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 157-166, 1985.