

Factores relacionados con nitrógeno ureico en leche de vacas lecheras

J J Montoya-Zuluaga, O D Múnera-Bedoya y M F Cerón-Muñoz

Grupo de Genética, Mejoramiento y Modelación Animal, (GaMMA), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia; Calle 70 No 52-21, Medellín, Antioquia.

grupogamma@udea.edu.co

Resumen

El nitrógeno ureico en leche (MUN) es un indicador del balance de la energía, proteína y fibra en la alimentación de las vacas en producción. Las variaciones del MUN también pueden estar relacionados con otros factores no nutricionales. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de algunos factores ambientales y genéticos sobre los niveles de MUN y determinar su relación con el porcentaje de grasa y proteína de la leche. Se utilizó información de 32837 muestras de leche del ordeño de la tarde de 4094 vacas en 100 hatos ubicados en ocho municipios del norte antioqueño. Los factores incluidos en el análisis fueron: número de partos, época y año de parto, municipio, finca, grupo racial, días en lactancia, día de la semana cuando se tomó la muestra y los porcentajes de grasa y de proteína de la leche. Se utilizó un modelo aditivo generalizado.

La producción de leche promedio del ordeño de la tarde fue de 9.25 ± 3.73 L, con 3.76 ± 0.6 % de grasa y 3.09 ± 0.31 % de proteína. El valor promedio de MUN fue 18.5 ± 4.04 mg/dL. Todos los efectos fijos incluidos en el modelo estadístico tuvieron influencia en la variación en el MUN ($p < 0.05$). Las vacas de primera lactancia mostraron valores más altos de MUN con 18.8mg/dL, comparada con las demás lactancias. La concentración de MUN alcanzó su punto máximo en el segundo tercio de lactancia (entre 101 y 200 días de lactancia) con un promedio de 19.1 mg/dL. En el caso de los días de la semana se encontró que las muestras tomadas los martes, miércoles y jueves presentaron un MUN de 18.6, 18.4 y 18.6 mg/dL, respectivamente y los lunes y viernes presentaron valores mayores de MUN de 19.0 mg/dL y 19.3 mg/dL, respectivamente. El estudio permitió concluir que la grasa y proteína de la leche así como los efectos: número de partos, época y año de parto, municipio, finca, grupo racial, periodo de lactancia, días en lactancia, día de la semana estuvieron relacionados con la variación de los niveles de MUN.

Palabras clave: composición de la leche, ganado de leche, nutrición

Factors associated with milk urea nitrogen in dairy cows

Abstract

Milk urea nitrogen (MUN) is an indicator of dietary energy, protein and fiber balance in lactating cows. Some non-nutritional factors can also cause MUN variations. The objective of this study was to assess the effect of environmental and genetic factors on MUN levels and their relationship with fat and protein content in milk. A total of 32,837 milk samples from the afternoon milking of 4094 cows in 100 herds located in eight municipalities of northern Antioquia was used. The factors analyzed were parity, season and year of calving, municipality, farm, breed, days in milk, day of the week when the sample was taken, and percentage of fat and protein in milk. A generalized additive model was used. The average milk yield of the afternoon milking was 9.25 ± 3.73 L, with $3.76 \pm 0.6\%$ fat and $3.09 \pm 0.31\%$ protein. The mean MUN value was 18.5 ± 4.04 mg/dL. All fixed effects influenced the MUN ($p < 0.05$). First-lactation cows showed higher MUN values (18.8 mg/dL) compared to other lactations. The MUN concentration reached its peak (19.1 mg/dL) in the second third of lactation (between 101 and 200 days of lactation). The MUN values were lower for Tuesdays, Wednesdays and Thursdays (8.6, 18.4 and 18.6 mg/dL, respectively) compared with Mondays and Fridays (19.0 mg/dL and 19.3 mg/dL, respectively). In conclusion, milk fat and protein as well as parity, season and year of calving, municipality, farm, breed, lactation stage, days in milk, and day of the week were related to MUN variations.

Key words: milk composition, milk cattle, nutrition

Introducción

Como resultado del mejoramiento genético y el desarrollo e implementación de nuevas tecnologías en la industria lechera, las vacas producen mayores volúmenes de leche y como consecuencia tienen un mayor requerimiento de nutrientes. Con el fin de satisfacer dichas necesidades nutricionales es esencial suministrar dietas de mejor calidad, balanceadas y con mayores niveles de compuestos nitrogenados durante la lactancia. Sin embargo, estas dietas aumentan las concentraciones de urea en sangre y consecuentemente las concentraciones de urea en leche, con repercusiones negativas para la salud del

animal, calidad de la leche y en la industria lechera. (Pinedo y Meléndez 2010). El nitrógeno ureico en leche (MUN) se ha utilizado como un indicador del balance de proteínas y energía de la dieta de vacas lactantes (Jonker et al 1999; Godden et al 2001b), ya que tiene una alta correlación con el nitrógeno ureico en sangre (Roseler et al 1993), siendo un método no invasivo, simple, rápido y económico para determinar el estado nutricional de las vacas que se encuentran en producción.

Según lo recomendado por el NRC (2001), las vacas alimentadas de acuerdo a la etapa de la lactancia tienen un aumento en su producción de leche, pero adicionalmente el consumo de proteína también aumenta, lo que puede llevar a el aumento de la energía disponible a través de la desaminación de aminoácidos o el cambio de la eficiencia de la utilización de los nutrientes absorbidos por el cuerpo (Chen et al 2016). Por consiguiente, niveles altos de proteína en la dieta aumentan las cantidades de amoníaco disponible en el rumen, lo que puede incrementar las concentraciones de MUN (Jonker et al 1998).

Meyer et al (2006), Roseler et al (1993) y Jonker et al (1998) reconocieron la importancia de la energía y el balance con las proteínas en la dieta para evitar que el organismo incremente la excreción de altas cantidades de nitrógeno a través de la leche. Las concentraciones de MUN pueden variar entre hatos, entre grupos de vacas y vacas (Rájala et al 2003). El seguimiento mensual del MUN puede ser una herramienta importante en el manejo de ganado lechero como indicador de la relación proteína y energía en la dieta de los animales en producción (Jonker et al 1999; Godden et al 2001b). Adicionalmente, los valores obtenidos en la prueba permiten evaluar y corregir el consumo de suplementos proteicos los cuales son costosos y pueden afectar la salud de los animales, la eficiencia reproductiva del hato y el ambiente si se suministran en exceso (Cerón-Muñoz et al 2014; Rajala-Schultz y Saville 2003).

Las concentraciones de MUN dependen de la composición de la dieta, principalmente de la proteína cruda, proteína degradable en rumen, proteína no degradable en rumen y carbohidratos no estructurales (Godden et al 2001b) y otros factores no nutricionales están asociados con la variación (Carlsson et al 1995; Cañas et al 2011). Dentro de estos factores se encuentran: la producción de leche (Oltner et al 1985; Godden et al 2001b; Kohn et al 2002; Meyer et al 2006), los compuestos de la leche tales como grasa y proteína (Godden et al 2001a; Meyer et al 2006), composición racial (Johnson and Young 2003; Magalhães 2003), número de partos (Godden et al 2001a; Jonker et al 1999), estaciones del año (Hojman et al 2005; Godden et al 2001a) y los días en lactancia (Trevaskis y Fulkerson 1999; Rajala-Schultz y Saville 2003; Godden et al 2001a).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de algunos factores ambientales sobre los niveles de MUN y determinar su relación con el porcentaje de grasa y proteína de la leche en vacas de sistemas de producción lechera del norte de Antioquia.

Materiales y métodos

Se analizaron 32837 muestras de leche de 4094 vacas con 5998 lactancia, provenientes de 100 hatos localizados en los municipios de Bello, San Pedro de los Milagros, Entreríos, Don Matías, Santa Rosa de Osos, San José de la Montaña, Belmira y Yarumal en departamento de Antioquia en Colombia, durante 2014 y 2016.

Las muestras de leche por vaca fueron tomadas cada 4 o 6 semanas en el ordeño de la tarde, siguiendo los protocolos del Comité Internacional de Registro Animal (ICAR 2002). Los análisis de constituyentes de la leche fueron realizados en un equipo CombiFoss Plus MilkoScan (Foss®, Denmark) basado en citometría de flujo, previamente calibrado con leche cruda estándar (Eastern Laboratory Services, Medina, OH, USA), en el Laboratorio de Calidad de Leche Cruda de la Universidad de Antioquia.

Se utilizaron registros de vacas con menos de 305 días en leche (DEL), con producciones en el ordeño de la tarde entre 2 y 35 L, con grasas entre 2 y 5 %, con proteínas entre 2 y 4.5 % y MUN entre 5 y 40 mg/dL. Las fincas tuvieron más de 200 muestras analizadas. La mayoría de muestras fueron de vacas de primer, segundo y tercer parto (6900, 7017 y 6054, respectivamente) y los grupos raciales Holstein, Jersey y su cruce tuvieron 28837, 1166 y 2834, respectivamente).

El modelo utilizado para determinar la relación de los factores ambientales con el MUN fue:

$$Y_{ijklmnopqrs} = + s(g_i, p_j) + s(l_k) + s(d_l) + f_m + t_n + r_o + n_p + a_q + j_r + e_{ijklmnopqrs}$$

Donde $Y_{ijklmnopqrs}$ es la variable nitrógeno ureico en leche, es el intercepto, $s(g_i, p_j)$, $s(l_k)$ y $s(d_l)$ son funciones suavizadas no parametrizadas de la i -ésima grasa con la j -ésima proteína, de la k -ésima producción de leche en el ordeño de la tarde y del l -ésimo día en lactancia ($l=1,2,..304$), respectivamente, f_m es el efecto de la m -ésima finca, t_n es el efecto del n -ésimo grupo contemporáneo de año (2014 a 2016) y época (diciembre a febrero, marzo a mayo, junio a agosto y septiembre a noviembre), r_o es el efecto del o -ésimo grupo racial (Holstein,

Jerhol y Jersey), n_p es el efecto del p-ésimo número de parto de la vaca ($p=1,2,3,4,5$ y ≥ 6), a_q es el efecto del q-ésimo día de la semana (q =lunes, martes, miércoles, jueves y viernes), j_r es el efecto aleatorio de vaca en una lactancia r ($r=1,2,\dots,5998$) y $e_{ijklmnopqrs}$ es el efecto residual.

Se utilizó un modelo aditivo mixto generalizado usando la librería mgcv (Wood 2017), del software estadístico R-project (R Core Time 2016).

Resultados y discusión

La producción de leche promedio durante el ordeño de la tarde en los animales muestreados fue de 9.25 ± 3.73 L y las cantidades de grasa y proteína fueron 3.76 ± 0.6 % y 3.09 ± 0.31 %, respectivamente.

El valor predicho medio del MUN fue 18.8 ± 2.66 mg/dL (Tabla 1), un valor por encima del límite máximo sugerido por Cerón-Muñoz et al (2014) para este parámetro (entre 12 y 18 mg/dL), y similar con estudios realizados en el norte de Antioquia (Cañas et al 2011; Henao-Velásquez et al 2014), En diferentes estudios se plantea que tanto niveles altos de MUN (Jonker et al 1998; Godden et al 2001b) como bajos (Roseler et al 1993; Godden et al 2001b) pueden asociarse con problemas nutricionales en los hatos lecheros. Valores altos de MUN pueden ser un indicativo de exceso de proteína degradable en rumen o no degradable en el rumen en la dieta, baja tasa de fermentación ruminal de carbohidratos no estructurales (CNE) o el aumento de la relación proteína cruda con los CNE.

Tabla 1. Composición y producción de leche de las vacas incluidas en el estudio.

Variable	Promedio	Mínimo	Mediana	Máximo
Días en leche	145±81	1	140	304
Producción ordeño de la tarde (L)	9.24±3.73	2.20	9	34
Grasa (%)	3.76±0.60	2.01	3.77	4.99
Proteína (%)	3.09±0.31	2.10	3.06	4.47
MUN (mg/dL)	18.8±2.66	5.04	18.8	39.9

Se encontró que todos los efectos fijos incluidos en el modelo tuvieron influencia en la variación del MUN ($p < 0.05$). Como se indica en la Figura 1, el nivel de MUN, y los porcentajes de grasa y proteína estuvieron relacionados sinérgicamente. Sin embargo, cuando la grasa fue superior a 3.5% el MUN superó los 18mg/dL, independientemente del porcentaje de proteína. Según Acosta et al (2005), lo anterior puede deberse a dietas altas en fibra y bajas de energía. Los valores más bajos de MUN (alrededor de los 12mg/dL) se encontraron cuando la grasa fue menor que 2.5% y la proteína estuvo entre 3 y 4% (relación de grasa proteína invertida). Según Acosta et al (2005), dietas con niveles bajos de fibra y altos de energía ocasionan niveles bajos de MUN con

altos contenidos de proteína en la leche. En general, a medida que aumenta el MUN el porcentaje de proteína en menor y el de grasa mayor. Los resultados encontrados para la variable proteína concuerdan con lo reportado por Godden et al (2001a) y Johnson y Young (2003) quienes encontraron que, a mayor contenido de proteína en la leche, los valores de MUN son más pequeños. Una relación similar fue observada por los mismos autores con el porcentaje de grasa en la leche; estos hallazgos difieren con lo obtenido en el presente trabajo y concuerdan con lo obtenido por Meyer et al (2006), quienes reportaron una relación positiva entre MUN y el porcentaje de grasa de la leche.

Figura 1. Variación de nitrógeno ureico en leche (mg/dL) en relación al porcentaje de grasa y proteína en vacas lecheras del norte Antioquia.

La relación entre MUN y producción de leche en la tarde fue similar a lo reportado por Joknker et al (1998) y Meyer et al (2006), quienes encontraron que grupos de vacas de mayor producción pueden presentar valores más altos de MUN. Godden et al (2001a) observaron una relación positiva no lineal entre MUN y la producción de leche y sugirió que este resultado se debía a la utilización de dietas con un alto contenido de proteínas para las vacas de alta producción. Según Meyer et al (2006), una posible explicación para el aumento de las concentraciones de MUN, en relación con el aumento de la producción de leche, podría ser el hecho de que el nutriente que se suministra de manera limitada en vacas de producción lechera es la energía. Por lo tanto, para aportar la cantidad de energía que requiere el animal en la dieta, se debe incrementar la ingesta de materia seca y con ello incrementar también la proteína. Como resultado se obtienen dietas con exceso de proteína en relación con la energía incrementando el MUN (Meyer et al 2006).

La variación en los valores MUN de acuerdo con la etapa de lactancia (Figura 2) fue similar a la forma típica de una curva de lactancia. Sin embargo, en el presente estudio, la concentración de MUN alcanzó su punto máximo en el segundo tercio (entre 101 y 200 días en leche) con un promedio de 19.1 mg/dL, mientras que la producción de leche alcanzó su punto máximo en el primer tercio (en los primeros 100 días en leche). Carlsson et al (1995), Trevaskis y Fulkerson (1999) y Rajala-Schultz y Saville (2003) reportaron patrones similares, donde el MUN presentaba los valores más altos alrededor de la mitad de la lactancia, probablemente debido al mayor consumo de materia seca, teniendo como consecuencia un aumento en el consumo de proteína cruda durante esta etapa.

Godden et al (2001a) reportaron una relación positiva no lineal entre el MUN y los días en lactancia y observaron que las concentraciones de MUN fueron bajas en los primeros 60 días, incrementaron entre los días 60 a 150 y disminuyeron después de los 150 días en lactancia. Para estos autores, las diferencias en el consumo de materia seca (MS), la adaptación de los microorganismos del rumen y la capacidad de absorción pueden haber causado las diferencias de MUN durante la lactancia. Arunvipas et al (2002) encontraron niveles bajos de MUN durante el primer mes de lactancia (17.5 mg/dL) con la baja ingesta de MS durante este período, estos niveles alcanzaron su pico en el cuarto mes de lactancia (19.1 mg/dL), debido al aumento en el consumo de MS. Posteriormente se presentó una disminución de los niveles de MUN (18,9 mg/dL) como resultado de la reducción en el consumo de MS y proteína. Lucci et al (2006) encontraron que las concentraciones de nitrógeno en plasma y en leche aumentaron semanas después del parto, lo que se atribuyó a la mejor calidad del alimento consumido tan pronto como se inició el período de lactancia.

Figura 2. Concentración de nitrógeno ureico en leche (MUN) a lo largo de la lactancia en vacas lecheras del norte de Antioquia.

Respecto al efecto de la variable raza los resultados obtenidos para Holstein, Holstein-Jersey y Jersey fueron de 18.9 ± 2.64 , 18.7 ± 2.54 y 16.9 ± 2.37 mg/dL, respectivamente. Estos resultados, aunque más altos concuerdan con los encontrados por Johnson y Young (2003), donde las vacas Holstein presentaron valores de MUN mayores (15.5 mg/dL) que las Jersey (14.1 mg/dL). Esto podría deberse a las diferencias en requerimientos nutricionales y condiciones fisiológicas y productivas de las razas (Johnson y Young 2003). Según Godden et al (2001a), animales con mayor producción de leche presentaron mayores niveles de MUN.

Las vacas de primera lactancia presentaron los valores más altos para MUN de 19.40 ± 2.62 mg/dL que las vacas de segunda (19.2 ± 2.26 mg/dL), tercera (18.6 ± 2.64 mg/dL), cuarta (18.5 ± 2.56) mg/dL, quinta (18.7 ± 2.56 mg/dL) y más de seis (17.9 ± 2.61 mg/dL) lactancias, aunque en todos los partos los niveles de MUN fueron elevados (superiores a 17.9), indicando un exceso de proteína cruda en la dieta, debido a que en la mayoría de los hatos lecheros del Norte de Antioquia, las vacas en producción reciben el mismo tipo de dieta, sin tener en cuenta un balanceamiento de la ración específico por niveles de producción, días en leche o edad del animal. Estos hallazgos son similares a los reportados por Jonker et al (1998), pero contrastan con los encontrados por Johnson y Young (2003), quienes encontraron valores más bajos de MUN en vacas de primera

lactancia, lo que ellos atribuyeron a un metabolismo más rápido de estos animales y en consecuencia una mayor eficiencia en la utilización de aminoácidos y una menor conversión a urea.

El día de la semana tuvo una alta significancia estadística ($p < 0.05$) en la variación de los niveles de MUN con un valor medio predicho de 18.5 mg/dL (Figura 3), donde el estimado para el martes (18.6 mg/dL), miércoles (18.4 mg/dL), jueves (18.6 mg/dL) y los días viernes y lunes de 19.3 y 19 mg/dL, respectivamente, siendo estos los días en que se presentaron los mayores niveles de MUN. Este hallazgo se podría deber a que en las fincas de la región desde el viernes y los fines de semana son los que presentan cambios laborales y rutinas de los trabajadores, lo que conlleva a modificaciones en el manejo y la alimentación de las vacas en producción, dando como resultado un aumento muy marcado en los valores de MUN para los días viernes y lunes. No se ha encontrado reportes de literatura donde se evalué este parámetro y se indiquen las causas que puedan ocasionar este efecto.

Figura 3. Valores promedio y errores estándar del nitrógeno ureico en leche en vacas, según el día de la semana

Los valores de MUN en la época de verano fueron mayores que en invierno (diferencia de 1.88 mg/dL). Esto puede deberse a que se presentan menores precipitaciones, lo que ocasiona una menor disponibilidad de forraje, conllevando al productor a aumentar el suministro de concentrado, y consecuentemente aumentan los niveles de MUN. Por otro lado, se encontraron altas variaciones de los niveles de MUN entre fincas, indicando la variabilidad de las condiciones nutricionales, genéticas y de manejo de los predios de la región (Cerón-Muñoz et al 2014; Henao-Velásquez et al 2014)

Conclusiones

- Los niveles de MUN encontrados en el estudio están por encima del límite máximo deseable para este parámetro. Adicionalmente, la relación entre MUN y el contenido de proteína es negativa, por el contrario, la relación entre MUN y contenido de grasa es positiva.
- La curva del MUN presenta niveles más altos en el segundo tercio coincidiendo con el punto de mayor consumo de materia seca. El lunes y viernes son los días con mayores niveles de MUN, el manejo y la

alimentación de las vacas de producción durante los días de descanso de los empleados podría explicar este fenómeno.

Agradecimientos

Al proyecto “Fortalecimiento de la producción de la cadena láctea del distrito Norte Antioqueño”, convenio N° 2012AS180031, firmado entre la Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural del Departamento de Antioquia, la Universidad Nacional de Colombia (sede Medellín) y la Universidad de Antioquia, con recursos del Sistema General de Regalías- SGR. Se recibió el apoyo del Comité para el desarrollo de la investigación- CODI (Estrategia para la Sostenibilidad ES84160119 grupo GAMMA).

Referencias

Acosta Y M, Delucchi I, Olivera M y Dieste C 2005 Urea en leche: factores que la afectan. INIA, Uruguay.

Arunvipas P, Dohoo I and Vanleeuwen J 2002 The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in Ayrshire dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85 (suppl.1):320.

Cañas J, Cerón-Muñoz M F y Corrales J 2011 Modelación de curvas de lactancia para producción de leche, grasa y proteína en bovinos Holstein en Antioquia, Colombia. *MVZ Córdoba*, 16(2):2514-2520.

Carlsson J, Bergström J and Pehrson B 1995 Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation and herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow's milk. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 36:245-254. <http://europepmc.org/abstract/med/7484551>

Cerón Muñoz M F, Henao A F, Múnera Bedoya O D, Herrera A C, Días A y Parra A M, Tamayo C H 2014 Concentración de nitrógeno ureico en leche interpretación y aplicación práctica. Ed. Biogenesis, Medellín, Colombia. p. 16. <https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/biogenesis/article/view/326014>

Chen Y, Harrison J, Ndegwa P, Wilks D, Vanwieringen L, Chalupa W and Sun F 2016 Case study: effect of strategic ration balancing on the efficiency of milk protein production and environmental impact of dairy cows in a commercial herd. *The Professional Animal Scientist*, 32(1): 115-133.

Godden S M, Lissemore K D and Kelton D F 2001a Relationships between milk urea concentrations and nutritional management, production, and economic variables in Ontario dairy herds, *Journal of Dairy Science*, 84 (1): 1128-1139.

Godden S M, Lissemore K D and Kelton D F 2001b Factors associated with milk urea concentrations in Ontario dairy cows, *Journal of Dairy Science*, 84:107-114.

Henao-Velásquez A F, Múnera-Bedoya O D, Herrera A C, Agudelo-Trujillo J H and Cerón-Muñoz M F 2014 Lactose and milk urea nitrogen: fluctuations during lactation in Holstein cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(9):479-484.

Hojman D, Gips M, Ezra E 2005 Association between live body weight and milk urea concentration in Holstein cows, *Journal of Dairy Science*, 88:580-584.

ICAR (International Committee for Animal Recording) 2002 Frequency of milk visits. ICAR International agreement of recording practices. Section 2.3.1.2. www.icar.org

Johnson R G and Young A J 2003 The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in Western commercial dairy herds, *Journal of Dairy Science*, 86:3008-3015.

Jonker J S, Kohn R A and Erdman R A 1999 Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. *Journal of Dairy Science*, 82:1261-1273.

Jonker J S, Kohn R A and Erdman R A 1998 Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81:2681-2692.

Kohn R.A, Kalscheur K.F and Russek-Cohen E 2002 Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen, *Journal of Dairy Science*, 85:227-233.

Lucci C S, Valvasori E and Peixoto J K 2006 Concentrações de nitrogênio na dieta, no sangue e no leite de vacas lactantes no período pós-parto. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35:258-263.

Magalhães A C M 2003 Teores de nitrogênio úreico no leite e plasma de vacas mestiças, Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/5164>

Meyer P M, Machado P F e Coldebella A 2006 Fatores não-nutricionais e concentração de nitrogênio úreico no leite de vacas da raça Holandesa. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35:1114-1121.

NRC 2001 Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Ed., National Academies Press, Washington D.C, USA. p. 408.

Oltner R, Emanuelson M and Wiktorsson H 1985 Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. *Livestock Production Science*, 12:47-57. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0301622685900399>

Pinedo P y Meléndez P 2010 Patrones temporales de recuento de células somáticas, grasa, proteína y nitrógeno ureico en leche de estanque y su asociación con fertilidad en ganado lechero en la zona centro-sur de Chile. *Archivos Medicina Veterinaria*, 42:41-48. http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2010000100006&script=sci_arttext

Rajala-Schultz P J and Saville W J A 2003 Sources of variation in milk urea nitrogen in Ohio dairy herds, *Journal of Dairy Science*, 86:1653-1661.

R Core Team 2016 R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Roseler D K, Ferguson J D and Sniffen C J 1993 Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in holstein cows, *Journal of Dairy Science*, 76:525-534. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030293773725>

Trevaskis L M and Fulkerson W J 1999 The relationship between various animal and management factors and milk urea, and its association with reproductive performance of dairy cows grazing pasture. *Livestock Production Science*, 57:255-265. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(98\)00174-2](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(98)00174-2)

Wood S 2017 Mixed GAM Computation Vehicle with GCV/AIC/REML smoothness estimation and GAMMs by REML/PQL. From: <http://stat.ethz.ch/R-manual/Rpatched/library/mgcv/html/mgcv-package.html>.

Received 14 July 2017; Accepted 23 September 2017; Published 3 October 2017