LEONARDO SANTOS D'ANGELO

**Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de
transição e início de lactação**

Pirassununga

2009

LEONARDO SANTOS D'ANGELO

**Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de
transição e início de lactação**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Francisco Palma Rennó

Pirassununga

2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2222
FMVZ

Santos D'Angelo, Leonardo

Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de
transição e início de lactação / Leonardo Santos D'Angelo. --2009.
91 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção
Animal, Pirassununga, 2009.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Palma Rennó.

1. Consumo e digestibilidade. 2. Desempenho produtivo.
3. Fermentação ruminal. 4. Proteína microbiana. 5. Período de transição.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito de diferentes fontes de gordura dietética sobre o metabolismo hepático, perfil hormonal e metabólico, fermentação ruminal, produção e composição do leite e desempenho reprodutivo em vacas leiteiras suplementadas durante o período de transição", protocolado sob o nº1051/2007, utilizando 36 (trinta e seis) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião do dia 17 de abril de 2007.

(We certify that the Research "Effect of dietary fat sources on hepatic metabolism, metabolic and hormonal profile, ruminal fermentation, milk yield and composition and reproductive performance of dairy cows supplemented during transition period", protocol number 1051/2007, utilizing 36 (thirty six) bovines, under the responsibility Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in the meeting of the day 04/17/2007).

São Paulo, 23 de abril de 2007

Profa Dra Denise Tabacchi Fantoni
Vice-Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SANTOS D'ANGELO, Leonardo

Título: Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

*Aos meus avós Pascoal D`Angelo e Madalena Pazzi, que são os eternos incentivadores da
minha luta em busca do conhecimento.*

*Ao meu pai Marino D`Angelo pelos eternos momentos de paciência e alegria, que nunca
serão esquecidos.*

À minha mãe, por tantos ensinamentos e momentos de sabedoria.

À Aline Macine Gregório, por sempre, sempre, acreditar na minha capacidade.

Ao meu Tio Dirceu D`Angelo, por me ensinar à força do trabalho e da honestidade.

*À Agelina Mancine Gregório, que sem o apoio não teria conseguido me inscrever no
programa de mestrado*

Aos meus afilhados e sobrinhos Alice D`Angelo e Luis Felipe Morelli D`Angelo

*E de forma muito especial a minha filha VITÓRIA Miranda D`Angelo cujo a simples
existência é a força motriz para continuar caminhando.*

Ao meu querido estado de Minas Gerais, por sempre me fazer ter orgulho de ser mineiro.

Dedico este trabalho com enorme gratidão

AGRADECIMENTOS

A Deus por tornar tudo possível;

À Universidade de São Paulo, a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, e ao

Departamento de Nutrição e Produção Animal pela oportunidade de realização deste curso;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo;

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, pela orientação, pela confiança, pelos ensinamentos, discussões acadêmicas, por sempre me enxergar como um colega de profissão e não somente como um simples aluno, possibilitando assim, a geração dos resultados, que hoje, apresento;

Aos meus companheiros Jefferson e José Esler, que sempre esteve do meu lado em todas as etapas desse trabalho, e por levar um pouco de espiritualidade para minha alma;

Aos colegas de mestrado Rafael (Bizão), Anaí e Lenita, pelo respeito, e confiança que sempre tiveram com a minha pessoa;

À Ana Paula, Beatriz e Carla, alunas de iniciação científica, pela grande ajuda durante o período experimental;

Aos professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP:

À Sra. Lucinéia Mestieri e Sr. José Franchini Garcia Moreno, funcionários do Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal e de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pelo imprescindível auxílio na realização das análises laboratoriais;

pelo imprescindível auxílio na realização das análises laboratoriais.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de Leite da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga – PCAPS, obrigado pela atenção dispensada;

Aos funcionários da Fábrica de Ração da PCAPS, agradeço a atenção dispensada;

A todas as moças da limpeza do VNP, por sempre fazerem aquele cafezinho, e por sempre me desejarem um bom dia!

RESUMO

D'ANGELO, L. S. **Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação.** [Fat sources fed to dairy cows in transition period and early lactation]. 2009. 91 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de diferentes fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras durante o período de transição e início de lactação, avaliando seus efeitos sobre o consumo de matéria seca e de nutrientes, digestibilidade aparente total da matéria seca e de nutrientes, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana produção e composição do leite e os parâmetros sanguíneos. Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandesa, suplementadas a partir do 35º dia antes do parto previsto até o 85º dia pós-parto com a mesma ração experimental durante todo o experimento. Os animais foram mantidos em baias individuais em galpão do tipo free-stall e distribuídas em três grupos experimentais, em delineamento inteiramente casualizado, alimentadas com as seguintes rações: 1) Controle; 2) Óleo de soja refinado; 3) Sais de cálcio de ácidos graxos insaturados (Megalac-E). O consumo de matéria seca foi mensurado diariamente durante todo o período experimental. Após o parto a produção de leite foi registrada diariamente e as amostras utilizadas para análise da composição do leite foram coletadas semanalmente, sendo provenientes de duas ordenhas diárias. As amostras de sangue foram coletadas em tubos vacuolizados por punção da veia e/ou artéria coccígea. As amostras de líquido ruminal foram coletadas com a utilização de sonda esofágica em dois tempos, antes (tempo zero) e três horas (tempo três) após a alimentação matinal. A digestibilidade foi determinada por meio de indicador interno FDAi. As amostras de urina foram coletadas 3 horas após a alimentação por massagem na vulva. Os dados de desempenho produtivo, consumo, digestibilidade aparente total, fermentação ruminal e síntese de proteína microbiana e parâmetros sanguíneos foram submetidos à análise estatística por meio do PROC MIXED e contrastes ortogonais (controle vs gordura; OS vs SC) utilizando-se o programa SAS, versão 9.1, adotando-se nível de significância de 5%. O consumo de matéria seca e o peso corporal foram influenciados pelas semanas em relação parto. As rações experimentais não influenciaram o consumo de matéria seca (CMS) expresso em quilos por dia no período pré-parto. De mesma forma não foi observado efeito no consumo de matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), carboidratos não fibrosos (CCNF), carboidratos totais (CCT),

nutrientes digestíveis totais (CNDT). No período pré- parto somente foi observado efeito no consumo de extrato etéreo (CEE). Houve efeito das rações experimentais sobre o CMS em kg/dia no período pós-parto. Este mesmo comportamento foi observado para o consumo de matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), carboidratos não fibrosos (CCNF), carboidratos totais (CCT), extrato etéreo (CEE), nutrientes digestíveis totais (CNDT). As rações experimentais não influenciaram os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria orgânica (CDMO), fibra em detergente neutro (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF), carboidratos totais (CDCT), e os nutrientes digestíveis totais observados, no pré-parto. No entanto, se observou efeito das dietas sobre os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB) e do extrato etéreo (CDEE). Não houve efeito das rações experimentais sobre os valores de pH ruminal nos dois tempos de coleta avaliados no período pós-parto e no tempo zero no período pré-parto. Não houve efeito das rações experimentais sobre as concentrações de N-NH₃ no período pré-parto. Não houve efeito das rações experimentais sobre as porcentagens e concentrações molares de ácido butírico e porcentagens dos ácidos acético e propiônico nos dois tempos de coleta no período pré-parto. Não houve diferença entre as rações experimentais para a excreção diária total de urina, excreções diárias de alantoína, e ácido úrico, de alantoína no leite, de derivados de purinas totais, da porcentagem de alantoína, das purinas absorvidas, do nitrogênio microbiano, e da eficiência de síntese de proteína microbiana para as rações experimentais tanto nos períodos pré e pós-parto. A produção de leite e a produção de leite corrigida não foram influenciadas pelas rações experimentais, que, no entanto, influenciaram o teor e a produção de gordura no leite. Quando avaliados os contrastes ortogonais, foi observada redução na produção de leite corrigida, no teor e na produção de gordura do leite para as vacas alimentadas com as rações com fontes de gordura em relação à ração controle, especialmente para o grupo alimentado com as rações contendo sais de cálcio de ácidos graxos. As concentrações no soro de glicose, ácidos graxos não esterificados e β -hidroxibutirato não foram influenciadas pelas rações experimentais nos períodos pré e pós-parto. Todos os parâmetros sanguíneos apresentaram efeito de tempo (semanas em relação ao parto) no período pós-parto. Quando avaliados os contrastes, não houve diferença entre as rações experimentais para os parâmetros sanguíneos avaliados neste estudo nos períodos pré e pós-parto. Houve interação entre o tempo e as rações experimentais para as concentrações de glicose no pré-parto.

Palavras-chave: Consumo e digestibilidade. Desempenho produtivo. Fermentação ruminal.
Proteína microbiana. Período de transição.

ABSTRACT

D'ANGELO, L. S. **Fat sources fed to dairy cows in transition period and early lactation.** [Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação]. 2009. 91 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

The objective of this study was to evaluate the use of different sources of fat in the diets of dairy cows during the transition period and early lactation, evaluating their effects on dry matter intake and nutrient digestibility of total dry matter and nutrients, rumen fermentation, microbial protein synthesis production and milk composition and blood parameters. We used 30 holstein cows, supplemented from 35 days before expected farrowing until 85 days postpartum with the same experimental diet throughout the experiment. The animals were kept in individual stalls in warehouse of free-stall and distributed into three experimental groups, in a randomized, fed the following diets: 1) control, 2) refined soya oil, 3) calcium salts of fatty fatty acids (Megalac-E). The dry matter intake was measured daily throughout the experimental period. After delivery, the milk production was recorded daily and samples used for analysis of the composition of milk were collected weekly, and from two daily milkings. Blood samples were collected in tubes vacuolated by venipuncture and / or coccygeal artery. Samples of rumen fluid were collected with the use of gavage in two days, before (time zero) and three hours (three) after the morning feeding. The digestibility was determined by means of an internal indicator fdai.as urine samples were collected 3 hours after feeding by massage of the vulva. Performance data production, consumption, apparent digestibility, rumen fermentation and microbial protein synthesis and blood parameters were statistically analyzed using proc mixed and orthogonal contrasts (control vs. Fat; OS vs SC) using the sas program, version 9.1, adopting a significance level of 5%. The dry matter intake and body weight were influenced by weeks for delivery. The experimental diets did not influence dry matter intake (DMI) expressed in pounds per day during the pre-delivery. In the same way we found that the intake of organic matter, crude protein, neutral detergent fiber, non-fiber carbohydrates, total carbohydrates, total digestible nutrients. In the pre-delivery only effect was observed in consumption of ether extract. There was a significant of experimental diets on the CMS in kg/day in the postpartum period. The same trend was observed for the consumption of organic matter, crude protein, neutral detergent fiber, non-fiber carbohydrates, total carbohydrates, ether extract, digestible nutrients total. The experimental diets did not influence the apparent digestibility of the organic matter, neutral

detergent fiber, non-fiber carbohydrates, total carbohydrates, and digestible nutrients total observed in the pre-partum. However, observed effect of diets on the digestibility of dry matter, crude protein and ether extract . There was no effect of experimental diets on rumen pH values in the two collection time evaluated in the postpartum period and at time zero in the period after the pre-partum. No effect of experimental diets on concentrations of $\text{NH}_3\text{-N}$ in the pre-delivery. There was no effect of experimental diets on the percentages and molar concentrations of butyric acid and percentages of acetic and propionic acids in the two collection times in the pre-partum. There was no difference between the experimental diets for a total daily excretion of urine, daily excretion of allantoin and uric acid, milk allantoin, purine derivatives, total percentage of allantoin, purine absorbed of microbial nitrogen, and efficiency of protein synthesis of microbial protein to experimental diets in both pre-and post-partum milk production and milk yield corrected were not influenced by experimental diets, which however, influenced the content and production of milk fat. When considering only orthogonal contrast, a decrease in milk production corrected, the content and production of milk fat for cows fed diets with sources of fat in the diet control, especially for the group fed with diets containing calcium salts of fatty acids. Serum concentrations of glucose, nonesterified fatty acid and β -hydroxybutyrate were not affected by the experimental diets in the pre-and post-partum. All blood parameters showed an effect of time (weeks for delivery) in the postpartum period. When assessing the contrasts, there was no difference between the experimental diets for the blood parameters evaluated in this study in the pre and post-partum. There was interaction between the time and the experimental diets for concentrations of glucose during labor.

Keywords: Intake and digestibility. Productive performance. Rumen fermentation. Microbial protein. Transition period.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	11
1.2 Hipótese.....	13
1.2 Objetivo.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Fontes de Gordura na Alimentação de Vacas Leiteiras.....	15
2.2 Digestão e Absorção de Lipídios.....	17
2.3 Utilização de fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação.....	23
2.4 Consumo de Matéria Seca	26
2.5 Digestibilidade Aparente Total dos Nutrientes.....	28
2.6 Fermentação ruminal	29
2.7 Produção e Composição do Leite.....	31
2.8 Óleo de soja.....	34
2.9 Sais de cálcio de ácidos graxos.....	37
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1.1 Local, Instalações e Animais.....	42
3.2.1 Coleta de Amostras e Análises Laboratoriais.....	43
3.3.2 Análises Estatísticas.....	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1 Consumo e Digestibilidade Aparente Total.....	51
4.3 Fermentação Ruminal.....	58
4.5 Síntese de proteína Microbiana Leite.....	64
4.4 Produção e Composição do Leite.....	67
4.5 Parâmetros Sanguíneos.....	75
5 CONCLUSÕES.....	80
REFERÊNCIAS	81

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Lipídios são utilizados em rações de animais por aumentar a capacidade de absorção de vitaminas lipossolúveis, fornecer ácidos graxos essenciais importantes para as membranas de tecidos e, principalmente, atuar como precursores para regulação do metabolismo. Além disso, aumentam a eficiência produtiva dos animais que depositam grande quantidade de gordura em seus produtos, como vacas em lactação (NRC, 2001; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Diante do intenso melhoramento genético em bovinos leiteiros nos últimos anos, o consumo de energia para vacas leiteiras tornou-se fator limitante para produção de leite, pois estes animais têm grande demanda energética excedendo em muitas ocasiões a capacidade de consumir energia da dieta, o que pode resultar em redução do desempenho produtivo e saúde destes animais (HARVATINE; ALLEN, 2006).

O período de transição é considerado umas dessas ocasiões do ciclo de produção de vacas leiteiras na qual ocorre variadas alterações no metabolismo e fisiologia, que posteriormente poderão influenciar o desempenho produtivo, reprodutivo e a saúde dos animais. Isso ocorre porque o aumento da produção leiteira é mais rápido que a capacidade de regulação do consumo de matéria seca. Esta condição metabólica é caracterizada como balanço energético negativo, onde há necessidade do organismo mobilizar reservas energéticas, normalmente do tecido adiposo, para atender as demandas energéticas da produção de leite, e caso esta mobilização seja em excesso, pode gerar complicações ao animal, tais como doenças metabólicas e problemas reprodutivos. Além disso, a capacidade de estocar nutrientes pode ser considerada relativamente pequena para vacas leiteiras, embora estes animais possam mobilizar altas quantidades de reservas corporais em períodos de balanço energético negativo (COPPOCK; WILKS, 1991).

Rebanhos leiteiros que possuem animais de alto mérito genético contém grupos de vacas em balanço energético negativo por longos períodos, especialmente no início da lactação, embora sejam fornecidas rações com alto teor de energia e seja mantido consumo *ad libitum*. Esse fato justifica a uso de fontes adicionais de gordura nas rações de vacas em lactação, pois as gorduras possibilitam aumento da densidade energética por unidade de matéria seca consumida, promovendo aumento do consumo de energia, evitando excesso da fermentação de carboidratos não fibrosos, e de dessa forma, prevenindo possíveis transtornos metabólicos que poderiam comprometer a saúde e o desempenho produtivo dos animais (GRUMMER,

1988). Além disso, a suplementação de gordura pode proporcionar manutenção do teor de fibra das rações, melhorar a aceitabilidade da dieta, proporcionar aumento do desempenho reprodutivo, maior persistência de lactação e ainda, dependendo da fonte utilizada, reduzir a quantidade de pequenas partículas nas rações (PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Entretanto, é preciso considerar que a inclusão de fontes adicionais de gordura nas rações de ruminantes pode causar alterações no metabolismo basal, especialmente o metabolismo ruminal, podendo modificar a flora microbiana, a digestibilidade e o aproveitamento de nutrientes e conseqüentemente, alterar a produção de proteína microbiana e o desempenho dos animais (PALMQUIST, 1991; JENKINS, 1993).

Umas das principais características inerentes as mudanças do metabolismo ruminal que são alteradas pela suplementação de gordura consiste no processo de biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados que tem como produtos finais ácidos graxos como o ácido linoléico conjugado (CLA), e que, ao mesmo tempo, são considerados potenciais inibidores da síntese da gordura do leite (BAUMAN; GRIINARI, 2003). Por isso, o estudo do metabolismo e a digestão de ácidos graxos oriundos de diferentes fontes de gordura para vacas leiteiras são de considerável interesse tanto para os nutricionistas de rebanhos leiteiros como para a indústria de produtos lácteos.

No entanto, segundo Smith e Harris (1993), resultados de pesquisas tem sugerido que as respostas a suplementação com gordura em rações de vacas em lactação são mais freqüentes quando estas são baseadas totalmente ou majoritariamente com silagem de milho como volumoso padrão. Quando são combinadas algumas fontes de gordura dietética e silagem de milho, são observados diferentes padrões de resposta. O aumento na concentração energética de dietas pré-parto, com a utilização de fontes de gordura, tem aumentado a ingestão voluntária de energia, gerado acréscimos no ganho de peso corporal, redução da mobilização de tecido adiposo e diminuição das concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE). Altas concentrações de AGNE refletem em quedas de consumo e aumento do balanço energético negativo.

Somente a boa qualidade da silagem não é adequada para manter as vacas em balanço energético positivo nas três semanas finais em relação ao parto. É necessário o incremento de energia digestível no pré-parto (0,72 – 0,74 Mcal/ EL) que pode ser alcançado por meio de suplementação com fontes de gordura. Portanto, as práticas de alimentação, a forma de arraçãoamento e manejo utilizados nas últimas semanas de gestação afetam o consumo de matéria seca, a produção leiteira, o desempenho reprodutivo, a saúde das vacas e pode reduzir a incidência de doenças no início do período de lactação.

Manter o consumo de energia no pré-parto até o parto e aumentar rápido no pós-parto seria uma forma interessante de minimizar a intensidade do balanço energético negativo, de modo que a dieta fornecida durante o período peri-parto visa preparar as vacas para receber a dieta de lactação e se manter em condição de balanço energético mais favorável, pois um baixo consumo durante essa fase pode gerar impactos negativos no desempenho de vacas leiteiras.

Dessa forma, a adição de fontes de gordura suplementar é alternativa para diminuir o período do balanço energético e maximizar o desempenho produtivo no pós-parto. Além disso, os ácidos graxos são tradicionalmente considerados fontes de energia e, recentemente, também tem sido considerados de importante função para a fisiologia e metabolismo de animais, sendo considerados nutraceuticos.

1.1 Hipótese

A hipótese deste estudo é de que a suplementação com gordura na alimentação de vacas leiteiras influencia positivamente o desempenho produtivo e a fisiologia digestiva.

1.2 Objetivo

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes fontes de gordura, adicionadas às rações de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação, sobre a produção e composição do leite, consumo e digestibilidade da matéria seca e nutrientes; fermentação ruminal; síntese de proteína microbiana; balanço de energia; e concentrações de parâmetros sanguíneos.

REFERÊNCIAS

Ver modelo anexo. As referências devem estar em ordem alfabética e sem justifica.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.

BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. **Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows.** In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 15., 2006, West Lafayette, Cornell University, **Proceedings...** 2006.14 p.

COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Milk yield, and composition Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: Effects on Intake, Digestion. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

GRUMMER, R. R. Influence of prilled fat and calcium salt of palm oil fatty acids on ruminal fermentation and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 1, p. 117-123, 1988.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of Fatty Acid Supplements on Feed Intake, and Feeding and Chewing Behavior of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1104-1112, 2006.

JENKINS, T. C. Lipid Metabolism in the Rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3851-3863, 1993.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7. ed. Washinton, D.C.: National Academic Press, 2001. 381 p.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal: Funep, 2006. p. 287-310.

PALMQUIST, D. L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 4, p. 1354-1360, 1991.

SMITH, W. A.; HARRIS, B.; VAN HORN JR., H. H.; WILCOX, C. J. Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 205-215, 1993.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fontes de Gordura na Alimentação de Vacas Leiteiras

O termo gordura consiste em definição genérica usada para compostos que possuem ácidos graxos de cadeia longa. Ácidos graxos são definidos como compostos que possuem cadeia longa de hidrocarbonetos e estrutura terminal com grupo carboxila, sendo que tais substâncias podem ser encontradas em grandes quantidades em sistema biológicas, raramente na forma livre, sendo tipicamente encontrados ligados a molécula de glicerol ou outras estruturas que se ligam ao carbono terminal (LEHNINGER, 2002).

A maioria dos ácidos graxos encontrados na natureza tem número de carbonos que comumente varia de 14 a 24, sendo classificados como saturados (todos os carbonos com ligações simples), ou insaturados (com uma ou mais ligações duplas entre átomos de carbono). Se os ácidos graxos têm uma única ligação dupla, este pode ser classificado como monoinsaturado, e se este tem uma ou mais ligações duplas, é classificado como poliinsaturado (LEHNINGER, 2002). O valor da gordura como combustível fisiológico é de 9,0 Mcal/kg, equivalente a cerca de 2,25 a energia de carboidratos e da proteína, mas isso desde que seja absorvida e fique a disposição para ser metabolizada (energia metabolizável). Portanto, varia em função da digestibilidade de cada fonte de gordura.

De forma geral, a suplementação de gordura nas rações de ruminantes tem as seguintes vantagens: disponibilidade comercial de fontes de boa qualidade; aumento da ingestão de energia quando a ingestão de matéria seca é reduzida (aumento da eficiência do uso de energia); aumento da eficiência do uso de energia em decorrência de menor incremento calórico; aumento parcial da eficiência da produção de leite pela incorporação direta da gordura da dieta na gordura do leite; substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis visando à otimização de consumo de forragem e fermentação ruminal (participação de nutrientes para a secreção do leite); aumento da flexibilidade para o preparo da ração; utilizados para modificação da composição da gordura do leite ou de tecidos para aceitação pelo consumidor e aumento da absorção de nutrientes solúveis (NRC, 2001; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

No entanto, embora se apresente como alternativa viável nas rações de ruminantes como fonte de energia, é preciso considerar que para vacas em lactação o uso de gordura pode promover variáveis respostas na produção e composição do leite, sendo que a resposta à suplementação depende da dieta basal fornecida (especialmente o volumoso), estágio de lactação, balanço energético e composição e quantidade da fonte de gordura utilizada (ONETTI; GRUMMER, 2004).

Além disso, ácidos graxos aproveitados no rúmen podem ter efeitos associativos sobre a digestão de nutrientes. De acordo com o NRC (2001), mudanças no consumo de matéria seca, teor de gordura do leite e digestibilidade de fibra, são indicativos de que a fermentação ruminal foi alterada durante o fornecimento de gordura nas rações.

O aumento da concentração energética das rações pós-parto tem mostrado em vários estudos aumento da ingestão voluntária de energia e melhoria da condição corporal das vacas, contribuindo com a redução da mobilização de gordura do tecido adiposo e conseqüentemente diminuindo as concentrações plasmáticas de AGNE, enquanto que as concentrações plasmáticas de IGF-1 e glicose nessas condições normalmente aumentam (MCNAMARA et al., 2003; THATCHER et al., 2004).

A utilização de diferentes fontes de gordura suplementar na ração de vacas leiteiras tem sido prática comum na alimentação, principalmente por permitir melhora no status energético desses animais (STAPLES, 2001). A suplementação de gordura nas dietas de vacas de alta produção é freqüentemente utilizada durante o pós-parto por aumentar a densidade calórica da dieta sem reduzir o conteúdo de fibras e, assim, promover aumento da ingestão de energia, e melhor desempenho produtivo e reprodutivo (GRUMMER, 2004).

Esse pode ser considerado um dos mais importantes benefícios da suplementação de energia, pois após o parto o baixo desempenho reprodutivo nas vacas leiteiras de alta produção podem afetar negativamente a viabilidade da atividade leiteira, pois aumenta o número médio de dias em lactação e diminui a produção diária de leite, devido especialmente ao aumento do intervalo de partos, que é ocasionado principalmente por falhas na detecção ou manifestação do estro e também por condições anovulatórias. Isso tudo se deve a seleção genética intensa para produção leiteira, resultando em animais que possuem necessidade metabólica de energia bem maior do que de duas décadas atrás.

A taxa de concepção em rebanhos comerciais de leite é de 35 a 40% em vacas multíparas, 51% em vacas de primíparas ou geralmente maior de 65% em novilhas, mostrando que a fertilidade diminui a cada parto até que as vacas atinjam a idade adulta. Em relação à fertilidade na inseminação artificial, existe relação positiva entre a taxa de

concepção e início precoce dos ciclos ovulatórios pós-parto. A taxa de concepção aumenta com o decorrer dos ciclos, sendo provável que haja relação com a melhora do perfil plasmático de progesterona, que pode ser alcançado com a utilização de protocolos de sincronização do estro e pela melhoria do balanço de energia das vacas.

Assim, o aumento do consumo de energia proporcionado pelo uso de fontes de gordura, e adequada quantidade de carboidratos não fibrosos nas rações podem evitar problemas metabólicos, perda excessiva de peso, baixa eficiência reprodutiva e baixo desempenho produtivo em vacas leiteiras (GRUMMER et al., 1990). Certos alimentos também podem ser considerados fontes de energia de baixo custo, como óleos vegetais e sementes de oleaginosas.

Considerando os inúmeros benefícios da suplementação de gordura para vacas em lactação, alguns fatores devem ser considerados essenciais para que se tenha sucesso com a suplementação de gordura. Entre estes fatores o período de adaptação se apresenta como o principal. De acordo com Grummer (1990) e Staples et al. (2001), a adaptação e a aceitabilidade das fontes de gordura durante o período de suplementação são fatores determinantes para respostas positivas no desempenho dos animais, pois quando se avalia diferentes fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras, respostas diferentes são esperadas e muito relacionadas ao tipo e nível de inclusão do suplemento na ração. De acordo com Grummer et al. (1990) a redução na aceitabilidade das fontes de gordura pode em parte explicar redução no consumo de matéria seca e baixa produção de leite. Segundo estes mesmos autores, as diferenças na aceitabilidade de diferentes fontes de gordura podem ser minimizadas misturando os suplementos aos outros ingredientes da dieta.

Assim, as fontes de gorduras se apresentam como alternativa viável e interessante para suprir a demanda energética de ruminantes especialmente para vacas leiteiras em períodos críticos do ciclo produtivo.

2.2 Digestão e absorção de lipídios

Durante o processo de digestão e absorção de lipídios em ruminantes, há três possíveis destinos dos ácidos graxos advindos das rações: 1) oxidação; 2) transferência para o leite; e 3) deposição na gordura corporal. Neste contexto, a digestão e o metabolismo de lipídios têm considerável importância, pois tanto o metabolismo ruminal como a digestão pós-ruminal

estão diretamente ligados a eficiência de utilização dos ácidos graxos (COPPOCK; WILKS, 1991).

De uma forma geral, o metabolismo ruminal de lipídios pode ser resumido por dois principais processos: lipólise e biohidrogenação de ácidos graxos insaturados (JEKINS, 1992; JENKINS, 1993). O processo de lipólise consiste na quebra das ligações ester encontradas nos lipídios dos alimentos da dieta seguida pela biohidrogenação de ácidos graxos insaturados, a qual reduz o número de duplas ligações de ácidos graxos insaturados (AGI) advindos das fontes de gordura (JEKINS, 1993; BAUMAN; LOCK, 2006). A hidrólise é predominantemente realizada pelas bactérias ruminais, sendo geralmente alta (>85%) e podendo ser influenciada por alguns fatores, como o nível de gordura na ração, pH ruminal e a utilização de ionóforos, que podem inibir a atividade e crescimento de bactérias (DOREAU; CHILLIARD, 1997; HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997).

Grande parte do processo de hidrólise de triglicerídeos é realizado pelas lipases microbianas, que são enzimas extracelulares ligadas em membranas compostas de partículas de proteína, lipídios e ácidos nucleicos (HEDERSON, 1973). A *Anaerovibrio lipolytica* é a mais conhecida bactéria com atividade lipolítica (HEDERSON, 1973). Fay et al. (1990) identificaram 74 cepas de bactérias ruminais que foram capazes de hidrolisar ligações éster. Essas enzimas hidrolisam triacilgliceróis completamente para ácidos graxos livres (AGL) e glicerol, com pouca acumulação de mono ou diacilglicerídeos (HAWKE, 1970). O glicerol é fermentado rapidamente, produzindo ácido propiônico como produto final.

A grande variação entre a gordura da dieta e a gordura secretada ou depositada em ruminantes está nas mudanças ocorridas no perfil dos ácidos graxos durante o processo de digestão (BEYERS; SCHELLING, 1993). Partes dessas mudanças ocorrem no processo de biohidrogenação ruminal, que consiste na adição de íons de hidrogênio nos ácidos graxos com duplas ligações, transformando ácidos graxos insaturados em AG saturados.

O processo de biohidrogenação pode ser considerado mecanismo de autodefesa dos microrganismos ruminais, que convertem ácidos graxos insaturados em ácidos saturados, que são conseqüentemente menos tóxicos a população microbiana ruminal. Os ácidos graxos reagem com íons de cálcio insolúveis que, portanto, se tornam atóxicos em nível de rúmen (PALMQUIST; MATTOS, 2006). Embora a biohidrogenação possa ser alta, acima de 90%, a intensidade a qual esse processo é realizado depende das características das fontes de gordura, tempo de retenção da fonte de gordura no rúmen e características da população microbiana (ALLEN, 2000).

A suplementação de óleos nas rações tem apresentado alta biohidrogenação no rúmen. Óleo de girassol nas rações de vacas em lactação apresentou aproximadamente 80% de biohidrogenação (KALSCHEUR et al., 1997). A saturação de AG no rúmen de vacas secas excedeu 75% quando óleo de soja foi adicionado em 8% da dieta total (BATEMAN; JENKINS, 1998). Uma vez que os lipídios nos alimentos estão, em sua maioria, na forma esterificada e as bactérias responsáveis pela hidrogenação atuam somente sobre ácidos graxos livres, a lipólise é, portanto, um pré-requisito para liberação dos ácidos graxos livres e glicerol.

O primeiro esquema sobre a teoria da biohidrogenação foi proposta por Davis e Brown (1970), e elaborada por Pennington e Davis (1975). Após hidrólise os ácidos graxos poliinsaturados tornam-se então, disponíveis à ação microbiana para o processo de biohidrogenação, que se inicia pela isomerização da ligação *cis*-12 dos ácidos linoléico e linolênico à ligação *trans*-11, que quando resultante do ácido linoléico, formam AG *cis*-9, *trans*-11, ou ácido linoléico conjugado (CLA) (Figura 1).

Fonte: Davis e Brown (1970), elaborada Pennington e Davis (1975).

Figura 1 - Biohidrogenação ruminal dos ácidos linoléico e linolênico, pelos grupos A e B de bactérias

Em seguida, a dupla ligação *cis*-9 é hidrogenada, produzindo C18:1 *trans*-11 e C18:2 *trans*-11, *cis*-15 para os ácidos linoléico e linolênico, respectivamente. O C18:2 *trans*-11, *cis*-15 sofre uma hidrogenação na dupla ligação *cis*-15, produzindo também C18:1 *trans*-11, o qual é também hidrogenado na C_{18:1} *trans*-11, resultando em ácido esteárico (Figura 1). As

bactérias envolvidas na biohidrogenação têm sido classificadas em dois grupos A e B, de acordo com o padrão metabólico (KEMP; LANOER, 1984). É preciso enfatizar que para se obter completa biohidrogenação de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) ambos os grupos de bactérias são geralmente necessários.

A ação específica de diferentes grupos microbianos (A e B) na hidrogenação de lipídios no rúmen também é demonstrada na Figura 1. O grupo A hidrogena os ácidos linoléico e linolênico somente a C_{18:1} *trans*-11, já o grupo B é capaz de hidrogenar ácidos graxos monoinsaturados a ácido esteárico. A espécie *Butyrivibrio fibrisolvens* tem sido reconhecida como a principal bactéria responsável pela biohidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen (KEPLER et al., 1970).

Devido à ocorrência do processo de biohidrogenação de ácidos graxos insaturados no rúmen, os ácidos graxos da dieta sofrem mudanças em sua estrutura química, e o perfil de ácidos graxos que passam para o abomaso é alterado, sendo que para comprovar a biohidrogenação completa de AG, maiores concentrações do ácido esteárico (C_{18:0}) teriam que ser encontradas na digesta abomasal comprovando tal condição (HAVERTINE; ALLEN, 2006a).

Entretanto, a biohidrogenação pode ser menor dependendo da concentração de hidrogênio (H) no rúmen, onde somente 1 a 2% do hidrogênio metabólico é usado para este processo (CZERKAWSK, 1984). Por outro lado, esse processo contribui para a retirada de íons H⁺ do ambiente ruminal, evitando seu acúmulo, e para a redução da produção de metano (CH₄) pelas bactérias metanogênicas, uma vez que estas consomem hidrogênio, aumentando desta forma a eficiência energética da dieta se todas as duplas ligações são completamente convertidas em ligações simples, e os ácidos graxos são saturados. Enquanto que a maioria dos ácidos graxos são modificados através do metabolismo ruminal, a hidrogenação não é normalmente completa, e ampla variedade de ácidos graxos são resultantes da uma biohidrogenação incompleta (BEYERS; SCHEHING, 1993).

Embora o processo possa ser eficiente (90%), o grau de hidrogenação é dependente das características químicas das fontes de gordura utilizadas, do tempo de retenção no rúmen, e das características da população microbiana presente no rúmen-retículo (RR) (BICKERSTAFFE; WARNER, 1968). A biohidrogenação aumenta com o grau de insaturação de ácidos graxos (AG), e pode ser reduzida pelo grau de insaturação das rações (WU, 1991). Além disso, a extensão pela qual este processo ocorre depende também da frequência de alimentação (NRC, 2001).

De acordo com NRC (2001) a estimativa de hidrogenação de AGPI varia de 60 a 90%, enquanto que a biohidrogenação de suplementos que contém AGPI pode ser de 30 a 40% se os ácidos graxos são fornecidos como sais de cálcio de ácidos graxos.

Com relação à digestão pós-rúmen, são várias as diferenças que demonstram a singularidade da digestão de gorduras em ruminantes. Nesses animais o conteúdo duodenal não é neutralizado pelo bicarbonato pancreático, portanto o pH permanece baixo. Em virtude da lipólise de glicerídeos ter ocorrido quase completamente no rúmen, os ácidos graxos estão na forma não esterificada e protonada, e adsorvidos nas partículas dos alimentos. A bile funciona então como detergente para remover os ácidos graxos dessas partículas, em vez de emulsificar os glicerídeos e ativar as lipases, como em animais monogástricos (PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Em todas as espécies a formação de micelas pode ser considerada o principal fator para o processo de solubilização e, portanto, a fase decisiva para a eficiência de absorção de ácidos graxos (BAUMAN; LOCK, 2006). A quantidade de lipase encontrada em ruminantes é somente 25% daquela observada em suínos. A bile de ruminantes é fonte importante de lecitina que quando hidrolisada pela enzima pancreática fosfolipase forma 1-Acil isolecitina e o ácido oléico, sendo que essas substâncias funcionam como poderosos agentes emulsificantes (BAUMAN; LOCK, 2006; PALQUIST; MATTOS, 2006).

Em ruminantes a bile é caracterizada por um excesso de ácidos biliares conjugados e taurina. Na maioria dos herbívoros, os ácidos biliares conjugados de glicina predominam, e nos ruminantes adultos os ácidos biliares conjugados de taurina excede os ácidos biliares de glicina na proporção de 3:1 (NOBLE¹, 1981 apud BAUMAN; LOCK, 2006, p. 3). Isso se torna importante, pois sob condições ácidas no pequeno intestino dos ruminantes, os ácidos biliares conjugados de glicina permanecem em condições parcialmente ionizados e na fase micelar, onde são mais ativos para efeito de solubilização. De forma semelhante para pH 2,5, ácidos biliares conjugados de taurina permanecem solúveis e parcialmente ionizados, enquanto que sais biliares conjugados de glicina são insolúveis em menores condições ácidas (pH=4,5) e não são ativos para efeito de solubilização (BAUMAN; LOCK, 2006).

A digestibilidade de AG em ruminantes também possuem algumas particularidades. Segundo Doreau e Ferlay (1994) a digestibilidade de ácidos graxos varia de 55 a 92%. Em geral, a capacidade de ruminantes absorverem AG é muito mais elevada em relação aos não-ruminantes. Em não-ruminantes a digestibilidade de AG insaturados diminui com aumento da

¹ NOBLE Digestion, transport and abortion of lipids. In: CHRISTIE, W. W (Ed.). **Lipid metabolism in ruminants animals**. Oxford: Pergamon Press, 1981. p. 58-93.

cadeia e com o número de ligações duplas. Em particular os AG palmítico e esteárico são pouco absorvidos em não-ruminantes. De acordo com Palmquist e Mattos, (2006) diferenças na absorção de ácidos graxos ocorrem em todos os animais, sendo que geralmente ácidos graxos poliinsaturados > monoinsaturados > palmítico > esteárico.

De acordo com o NRC (2001) o aumento no grau de insaturação de ácidos graxos fornecidos nas dietas podem aumentar a digestibilidade de ácidos graxos, porém reduções no consumo de matéria seca, porcentagem de gordura do leite e digestibilidade da fibra são indicadores que a fermentação ruminal foi alterada pela suplementação de gordura.

Segundo Jenkins (1993), algumas teorias foram propostas para tentar explicar os efeitos indesejáveis da suplementação de gordura sobre a fermentação ruminal: 1) “efeito antimicrobiano” ou seja, as gorduras têm efeito tóxico sobre os microrganismos ruminais; 2) lipídios modificam a população microbiana impedindo a digestão da celulose reduzindo o aproveitamento de cálcio necessários para a função microbiana e; 3) lipídeos formam uma camada protetora cobrindo as partículas dos alimentos causando impedimento físico sobre a ação das enzimas microbianas impedindo a degradação da celulose. O processo de saturação de ácidos graxos pelos microrganismos ruminais, ou seja, a biohidrogenação tem como objetivo reduzir sua atividade e desse modo proteger a integridade das membranas lipoprotéicas microbianas (JENKINS, 1995).

Embora exista padrões parecidos entre ruminantes e não-ruminantes, existe relativa diferença na digestibilidade de ácidos graxos. Individualmente a digestibilidade de ácidos graxos pode ser moderada, sendo os valores de digestibilidade para C16:0, 18:0, 18:1, 18:2 e 18:3 de 75, 72, 80 e 78 e 77% (LOCK et al., 2005). No entanto, Doreau e Ferlay (1994) observaram em revisão de literatura que as medidas de digestibilidade foram 77, 85, 83 e 76% para AG de 18 carbonos com, zero, uma, duas e três ligações, respectivamente. De acordo com o NRC (2001) a digestibilidade de ácidos graxos com e sem glicerol é de 86% para suplementos de gordura.

Portanto, as mudanças no perfil de ácidos graxos durante o metabolismo ruminal causa variações na absorção de ácidos graxos saturados e insaturados, o que é determinante para incorporação desses compostos nos tecidos corporais e no leite.

2.3 Utilização de fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação

No final do período seco, quando a vaca se aproxima do parto, ocorre grande aumento do crescimento fetal, ocasionando elevação da pressão interna nos órgãos digestivos e diminuição do seu espaço físico, e, concomitantemente, ocorre grande variação hormonal no pré-parto, marcado principalmente pelo aumento nas concentrações sanguíneas de estrógenos e corticóides, levando a queda nas concentrações de progesterona (CHEW et al., 1979). Como consequência, ocorre redução no consumo de matéria seca em até 30%, aumento do catabolismo do tecido adiposo, e elevação das concentrações plasmáticas de AGNE em duas ou três vezes (BERTICS et al., 1992; GRUM et al., 1994).

O manejo nutricional e a alimentação são fatores essenciais do ciclo produtivo das vacas leiteiras que devem atender a critérios relacionados aos vários eventos que determinam a fisiologia e a endocrinologia nas últimas semanas de gestação, que afetam o consumo de matéria seca, a produção leiteira, a saúde das vacas e a redução da incidência de doenças no início do período de lactação (OLSON, 2002). Assim sendo, as vacas no período seco devem ser agrupadas em grupos distintos: o primeiro grupo abrange os animais que iniciam o período de repouso, que vai da primeira a sexta semana dentro do período seco, denominada Fase 1 ou “Far Off”; o segundo grupo abrange os animais desde da Fase 1 até as três últimas semanas que antecedem o parto, sendo denominada Fase 2 ou “Close Up”.

Aumentando a densidade energética na dieta de 1,30 para 1,62 mega-calorias de energia líquida de lactação (Mcal ELL)/kg de matéria seca (MS) e a proteína bruta de 12 para 16 por cento durante os vinte e seis dias pré-parto pode resultar em maior ingestão de energia durante o peri-parto e diminuição de até 9 vezes o acúmulo de gordura no parênquima hepático (15,0 mg/grama de tecido) (VANDEHAAR et al., 1995). A adição de 450 até 700 gramas de gordura na dieta pode aumentar a ingestão de energia pelo animal, sem causar problemas relacionados com o consumo de matéria seca (BORBA et al., 2006).

Staples (2001) cita que a resposta produtiva a utilização de gordura dietética para vacas em lactação pode resultar em acréscimos na produção de leite de 2 a até 5 kg/vaca/dia, sendo necessário que os animais tenham período de adaptação longo a esta dieta para que respondam a alta energia oriunda dos lipídios, dessa forma justificando a necessidade de utilizar gordura na dieta de transição. A primeira razão para ocorrência do aumento da produção de leite é a melhor eficiência de utilização da gordura dietética por vacas em

lactação, onde as perdas energéticas são menores em relação aos demais grãos utilizados em concentrados e aos volumosos sendo que o consumo diário de energia é usualmente aumentado (JERRED et al., 1990).

Allen (2000) resumiu experimentos onde foram observados redução do consumo de matéria seca (CMS) em vacas recebendo fontes de gordura e verificou que os possíveis fatores para estas reduções são alterações na motilidade do trato gastrointestinal, problemas relacionados a aceitabilidade das dietas com adição de gordura, alterações do perfil hormonal, alteração do perfil lipídico presente na membranas celulares e o excesso de oxidação de gordura no tecido hepático. Segundo o NRC (2001), pode haver uma queda no consumo de matéria seca (CMS), entretanto, a magnitude dessa redução de consumo muitas vezes não é suficiente para reduzir o aporte energético oferecido pelas fontes de gordura.

Manter o consumo de energia no pré-parto até o parto e aumentar rápido no pós-parto seria uma estratégia interessante de minimizar o balanço energético negativo (BUTLER, 2004). Durante o balanço energético negativo, eventos metabólicos sustentam as prioridades metabólicas voltadas a lactação e a função da glândula mamária em relação a função ovariana, assim a função reprodutiva é diretamente dependente da disponibilidade de nutrientes a serem utilizados para lactação (STAPLES et al., 1998).

A digestibilidade dos ácidos graxos é influenciada pelo CMS, pela quantidade de gordura ingerida, pelas características da dieta basal e da fonte de gordura utilizada (NRC, 2001), e pelo grau de insaturação dos ácidos graxos presentes nas fontes de gordura (GRUMMER, 1995; STAPLES et al., 1998). As alterações no consumo de matéria seca podem ser observadas principalmente quando é iniciada a suplementação lipídica, em razão da fonte de gordura usada muitas vezes não ser bem caracterizada, ou quando somente a silagem de milho é usada em como volumoso padrão (ONETTI et al., 2001).

As diversidades das fontes de gordura, o seu grau de saturação e a proporção de volumoso basal na dieta de vacas durante o período de transição e terço médio de lactação podem interferir na digestibilidade aparente total dos nutrientes, de modo que a disponibilidade de ácidos graxos essenciais ser alterada (GRUMMER, 2004).

O tipo de fonte de gordura suplementar também influencia o consumo de matéria seca (CMS), como sais de cálcio de ácidos graxos, sendo as fontes que mais deprimem, podendo chegar a uma redução de até 50%, gorduras hidrogenadas e triglicerídeos pouco influenciam o consumo de matéria seca (MS), enquanto que a magnitude de depressão de CMS com utilização de óleos vegetais é bem menor (ALLEN, 2000).

Entretanto, as diferenças no consumo não são significantes quando as fontes de gordura são misturadas no concentrado ou quando os animais são adaptados previamente (STAPLES et al., 1998; NRC, 2001). Normalmente estas alterações são atribuídas ao impacto negativo que as gorduras insaturadas produzem na digestão da fibra no rúmen, devido a maior produção de ácidos graxos trans no rúmen oriundos da biohidrogenação incompleta de ácidos graxos insaturados, o que compromete a síntese de ácidos graxos na glândula mamária, inibindo a síntese de gordura no leite (BAUMAN; GRIINARI, 2001).

Alguns autores sugeriram que a diminuição da gordura do leite pode ajudar a minimizar o balanço energético negativo (BEN) no início da lactação, melhorando o status metabólico de vacas leiteiras nas primeiras quatro semanas de lactação sendo essa uma opção de manejo sob algumas circunstâncias de lactação (BERNAL-SANTOS et al., 2003; SELBERG et al., 2004).

Gwazdauskas et al. (2000) relataram que no mínimo 80% das vacas leiteiras apresentam balanço energético negativo no início da lactação variando intensidade e duração, sendo o principal elo entre nutrição e baixa fertilidade em vacas leiteiras, atrasando a retomada da função reprodutiva pós-parto. A suplementação de gordura na dieta de vacas leiteiras tem influenciado positivamente o desempenho reprodutivo, independentemente do balanço energético da dieta ou da vaca (HANSEN, 1999). Esses efeitos positivos na reprodução incluem um aumento do tamanho do folículo ovulatório, aumento no número de folículos, aumento na concentração plasmática de progesterona e fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1), redução na secreção de metabólitos de prostaglandinas, aumento da fertilidade e sobrevivência do embrião na fase inicial e de reconhecimento materno (WILLIAMS, 1996; BEAM; BUTLER, 1998; STAPLES et al., 1998). Dessa forma, a adição de fontes de gordura suplementar é alternativa para melhorar o balanço energético no início da lactação e maximizar o desempenho produtivo e reprodutivo no pós-parto.

Em estudos onde as vacas em lactação receberam dieta baseada em sementes de algodão (9% C18:2) e suplementado com sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa (8% C18:2) apresentaram melhor taxa de concepção do que as que receberam dietas inteiras de semente de algodão (STAPLES et al., 1998). As vacas em lactação que receberam sebo (4,3% C18:2), na dosagem de 3% da matéria seca da dieta, apresentaram tendência a ter maior taxa de concepção aos 98 dias de lactação do que as vacas que não receberam.

A administração de gordura após trinta dias de lactação também foi benéfica para a melhoria do desempenho reprodutivo em vários estudos (STAPLES et al., 1998; SELBERG et al., 2004). O benefício dos lipídios para a fertilidade pode ser devido a uma diminuição da

taxa de degradação hepática da progesterona (HAWKINS et al., 1995) e aos efeitos do metabolismo dos ácidos graxos no tecido hepático (OLSON, 2002; BUTLER, 2004).

Portanto, as gorduras quando utilizadas em rações de vacas leiteiras tem grande potencial para melhorar o consumo de energia principalmente no início de lactação. Entretanto, atenção especial deve ser dada ao período de adaptação e a resposta ao tipo de suplemento utilizado de forma que reduções no consumo e na digestibilidade de nutrientes podem prejudicar tanto o desempenho produtivo como o desempenho reprodutivo.

2.4 Consumo de Matéria Seca

O consumo de energia pode ser considerado o parâmetro de limitação primária sobre o desempenho produtivo de vacas leiteiras, sendo este determinado pelo conteúdo de energia líquida da dieta e pelo consumo de matéria seca (CMS).

Os resultados referentes ao CMS em vacas leiteiras suplementadas com fontes de gordura nas rações tem sido inconsistentes em função de vários fatores que podem estar envolvidos na diminuição do consumo. De acordo com Allen (2000), a suplementação de gordura nas rações de vacas em lactação tem proporcionado redução da digestibilidade da matéria seca e conseqüente diminuição do CMS. No entanto, é preciso considerar que quando se avalia o CMS de vacas suplementadas com fontes de gordura, uma série de parâmetros estão envolvidos, sendo os principais a digestibilidade da fração fibrosa, o tipo de volumoso utilizado, a fonte e nível de gordura utilizado, e o estágio de lactação no qual se iniciou a suplementação de gordura (NRC, 2001; STAPLES, 2001; ONETTI; GRUMMER, 2003).

O NRC (2001) considera que mudanças no padrão de digestibilidade da fração fibrosa, alterações na fermentação ruminal e redução no teor de gordura no leite são fortes indicativos que a suplementação de gordura promoveu resposta fisiológica nos animais suplementados. Apesar de alguns estudos que utilizaram fontes adicionais de gordura para vacas leiteiras demonstrarem mudanças no padrão de fermentação ruminal, tais alterações nem sempre refletem em redução no consumo. Isso ocorre porque, segundo Allen (2000), os mecanismos pelo qual a suplementação de gordura na ração afeta o CMS ainda não está devidamente elucidado, mas há fortes evidências de que o efeito da gordura sobre a fermentação ruminal, motilidade intestinal, aceitabilidade da dieta com suplemento, liberação de hormônios intestinais, mecanismos regulatórios que controlam a ingestão de alimentos e a capacidade

limitada dos ruminantes de oxidar os ácidos graxos sejam as principais razões da inibição de consumo.

Ueda et al. (2003) avaliaram a suplementação de óleo de soja em 4 e 6% da matéria seca total, utilizando feno de gramínea na proporção volumoso concentrado de 65:45, e não observaram redução no consumo de matéria seca e consumo de matéria orgânica. Onetti et al. (2001) também não observaram redução no consumo de matéria seca em vacas suplementadas com níveis de 4 e 6% de sebo e gordura branca na matéria seca total, utilizando silagem de milho na proporção volumoso:concentrado de 50:50. Zheng et al. (2005) não observaram redução no CMS em vacas com média de 40 dias em lactação e recebendo cerca de 500g de óleo/dia (2% da matéria seca total), utilizando silagem de milho como maior parte do volumoso.

Dois principais pontos devem ser destacados quando se analisa alterações no CMS em vacas suplementadas com fontes de gordura: 1) aceitabilidade do suplemento de gordura, que está diretamente relacionado às alterações no consumo de matéria seca, pois quando o período de adaptação não é suficiente para os animais, as respostas à suplementação podem não representar a realidade; 2) tipo e nível de suplementação de gordura utilizado, pois respostas diferentes são observadas de acordo com as características químicas e físicas da gordura utilizada.

De acordo com NRC (2001), para dietas contendo de 5 a 6% de ácidos graxos na matéria seca, a adição de óleo de sementes e ácidos graxos parcialmente hidrogenados reduziram o CMS. Dhiman et al. (2000) e Chilliard et al (2003), no entanto, verificaram que não houve diferença no CMS com a inclusão de 4 a 6% de óleo na MS.

A adição de sebo, gordura amarela e sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma também resultaram em efeito negativo com diminuição linear no CMS. Grummer et al. (1990) avaliaram a suplementação de fontes comerciais de gordura em três fazendas, perfazendo um total de 209 animais em lactação. Estes autores enfatizaram que a aceitabilidade aos suplementos pode explicar em parte as reduções no CMS, que conseqüentemente reflete em baixo desempenho ou desempenho não esperado quando se realiza suplementação de gordura em animais em produção.

Entretanto, as respostas à suplementação em certos estágios de lactação podem representar maiores ou menores alterações no CMS, pois, independentemente da suplementação de gordura, reduções de consumo pode ser esperadas em fases críticas do ciclo produtivo, como o início de lactação. Onetti & Grummer (2004) compilaram dados de 41 experimentos e avaliaram a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos, sebo e ácidos

graxos de sebo hidrogenados. Estes autores avaliaram estudos estabelecendo separações de resultados de acordo com a fase de lactação, e avaliaram a suplementação de gordura sobre o CMS no início e terço médio de lactação.

Nos estudos avaliados por Onetti e Grummer (2004) as dietas continham média de 3,6% de extrato etéreo, e houve redução de consumo tanto no início como no terço médio de lactação, embora as vacas em início de lactação possam ser mais beneficiadas pelos suplementos do que vacas no terço médio. Isso ocorre porque vacas no início de lactação possuem condições fisiológicas onde ocorre maior balanço energético negativo, promovendo maior consumo de energia líquida. Vacas no terço médio de lactação estão em balanço energético positivo, onde estes animais não aproveitam de forma eficiente o benefício do aumento da densidade energética das rações.

2.5 Digestibilidade Aparente Total dos Nutrientes

O efeito do uso de gordura sobre a digestibilidade dos nutrientes da dieta pode ser influenciado por uma série de fatores, especialmente pela característica inerente ao suplemento e sua forma de utilização, como o nível e tipo de suplemento utilizado, e o tipo de volumoso utilizado durante a suplementação.

A redução na digestibilidade da matéria seca total e da fibra pode reduzir a taxa de passagem e, conseqüentemente, o consumo de matéria seca e energia líquida. Dados da literatura mostram que a interação entre a dieta basal e suplementação de lipídios sobre a digestibilidade total são inconsistentes. Óleos reduzem a digestibilidade aparente total de carboidratos quando se fornece silagem de milho como volumoso comparado com outros volumosos como o feno de gramíneas (BEM; SALEM, 1993). No entanto, Bateman e Jenkins (1998) demonstraram que grandes quantidades de óleo de soja em combinação com altas quantidades de forragem nas rações podem ser fornecidas sem prejuízo sobre a digestibilidade aparente total.

Ueda et al. (2003) avaliaram a inclusão de 3% de óleo de soja na matéria seca em dietas de alta e baixa quantidade de feno de pastagem sobre a digestibilidade aparente total em quatro vacas canuladas no rúmen e duodeno. Estes autores observaram que a degradabilidade da FDN aumentou nas dietas com óleo e alta relação volumoso:concentrado em relação a dietas com baixo teor de volumoso. No entanto, houve redução na digestibilidade da matéria

orgânica (MO) de 15,5%, FDN em 22,7% e FDA em 30,7% para as rações com óleo e baixo teor de volumoso nas dietas.

Faichney et al. (2002) demonstraram que a digestibilidade aparente total foi compensada parcialmente pelos efeitos negativos na degradabilidade ruminal quando foi utilizada fontes gorduras insaturadas como fonte de energia. Dareau et al. (1991) não observaram redução na digestibilidade de MO de vacas leiteiras suplementadas com 10% de óleo, utilizando feno como volumoso e dietas com a proporção volumoso:concentrado de 50:50. Elliot et al. (1993) avaliaram a inclusão de óleo de milho nas rações de vacas Holandesas em dietas com 5,2 % de extrato etéreo utilizando feno de alfafa como volumoso, e não verificaram alterações na digestibilidade aparente total dos nutrientes e degradabilidade da fibra.

Quando se avalia o efeito de fonte de gordura inertes no rúmen como sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa sobre a digestibilidade aparente total em relação a fontes de gordura, os resultados demonstram que pode haver benefícios na digestibilidade de nutrientes para este tipo de fonte de gordura. Onetti e Grummer, (2004) avaliaram a digestibilidade aparente total da matéria seca e FDN em diversos estudos que utilizaram fontes de gordura. Estes autores observaram aumento de 2,1% na digestibilidade da FDN em 13 comparações quando foi utilizado sais de cálcio de ácidos graxos em relação ao sebo e a gordura branca parcialmente hidrogenada. Observaram também que a inclusão média de 3,5% de gordura na dieta total, em todos os experimentos avaliados, resultou em redução de 2% na digestibilidade da matéria seca, enquanto que houve aumento de 1,7% para os experimentos que utilizaram sais de cálcio de ácidos graxos.

Portanto, o tipo e nível de volumoso basal, assim como o grau de saturação dos suplementos de gordura utilizados, podem interferir na digestibilidade aparente total de vacas suplementadas com fontes adicionais de gordura.

2.6 Fermentação ruminal

Em relação as variações no padrão de fermentação ruminal, segundo Jenkins (1993), a variação dos efeitos das fontes de gordura sobre a fermentação ruminal pode ser atribuída às poucas diferenças entre as estruturas dos lipídios. Dentre esses fatores o grau de insaturação dos ácidos graxos pode ser considerada característica essencial das gorduras quando utilizadas como fonte de energia nas rações de ruminantes. Isso porque os ácidos graxos insaturados

podem inibir a fermentação ruminal em relação a ácidos graxos saturados. Ainda, essa característica específica pode ser justificada pelo fato de que a mistura de ácidos graxos saturados e insaturados melhorar a fermentação quando comparada com fontes simples de ácidos graxos (HAVERTINE; ALLEN, 2006a).

Entretanto, quando lipídios são adicionados nas rações de ruminantes podem afetar a fermentação ruminal causando redução da digestibilidade dos nutrientes da dieta. A digestão ruminal de carboidratos estruturais pode ser reduzida em 50% quando menos de 10% de gordura é adicionada nas rações. Esta redução na digestão é acompanhada pela redução na produção de metano, hidrogênio, e ácidos graxos voláteis, incluindo baixa razão acetato: propionato (JENKINS, 1993). Ácidos graxos parcialmente na forma não esterificada são tóxicos aos microrganismos ruminais e podem diminuir a degradação de fibra (PALMQUIST; JENKINS, 1980; CHALUPA et al., 1984; JENKINS, 1993).

De acordo com Palmquist (1988) o efeito dos ácidos graxos sobre a degradabilidade ruminal de nutrientes pode ser minimizado se a dieta conter alta quantidade de volumoso, isso podendo ser comprovado principalmente pela capacidade da forragem em manter o funcionamento normal do rúmen. Assim, os efeitos de ácidos graxos insaturados sobre a digestão ruminal podem ser variáveis, onde o tipo de volumoso utilizado durante a suplementação pode ser considerado fator preponderante para que isso ocorra (UEDA et al., 2003). Onetti e Grummer (2004) enfatizam que a utilização de silagem de milho como volumoso pode causar mudanças na população bacteriana no rúmen, favorecendo organismos responsáveis pela formação de *trans*-10, *cis*-12 CLA, e isômeros *trans* de C18:1, ou seja, favorecendo o processo de biohidrogenação que causa a formação de CLA específico, reduzindo a síntese de gordura do leite (BAUMMAN; GRUMMER 2001).

O fornecimento de dietas com alta proporção de silagem de milho como volumoso diminui no rúmen a proporção molar de acetato e reduz a de propionato quando comparadas a dietas ricas em silagem de alfafa, ou dietas com proporções iguais das duas forragens (BRODERICK, 1985; DHIMAN; SATTER, 1997; ONETTI et al., 2001). No entanto, é preciso enfatizar que além do volumoso utilizado em maior quantidade na dieta durante a suplementação de gordura, a fase na qual se iniciou a suplementação pode influenciar as mudanças do padrão de fermentação ruminal.

Onetti e Grummer (2004) compilaram dados de 41 experimentos que avaliaram inclusão de sais cálcio de ácidos graxos, sebo e gordura branca hidrogenada e seus efeitos sobre os parâmetros de fermentação ruminal em diferentes fases de lactação. Estes autores verificaram que houve redução da relação acetato:propionato para os animais que estavam no

terço médio de lactação em relação ao início de lactação. Este resultado, segundo estes autores, pode ser justificado em parte pelo aumento da taxa de passagem devido ao aumento do CMS em vacas em início de lactação, o que influencia a degradação da fibra, resultando em menor produção de ácidos graxos voláteis, especialmente o acetato.

Com relação ao uso de feno durante a suplementação de gordura, os efeitos desse volumoso não tem apresentado alterações no padrão de fermentação ruminal, sendo diferente em relação ao uso de silagem de milho. Elliot et al. (1993) e Ueda et al. (2003) avaliaram suplementação de gordura em vacas leiteiras no início de lactação e utilizaram feno de gramíneas como principal volumoso nas dietas, e observaram redução na proporção molar de acetato em relação à de propionato.

Certas fontes de gordura, especialmente na forma protegida da degradação ruminal, como os sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa, e fontes de gordura que possuem proteção natural, como sementes de oleaginosas inteiras ou parcialmente quebradas, apresentam efeito inerte sobre a população microbiana, não apresentando toxicidade da gordura sobre os processos de degradação ruminal de nutrientes, especialmente da fibra (ALLEN, 2000; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

2.7 Produção e Composição do Leite.

O desempenho produtivo de vacas leiteiras suplementadas com fontes de gordura pode variar em função da dieta basal (especialmente o volumoso), estágio de lactação, balanço energético, composição e nível de inclusão da fonte de gordura utilizada (NRC, 2001).

A primeira razão para a ocorrência do aumento de produção é a melhor eficiência de utilização da gordura dietética, onde as perdas energéticas durante o metabolismo são menores em relação à utilização de grãos comumente utilizados em concentrados e em volumosos. Além disso, a adição de gordura para vacas em lactação aumenta a densidade energética dietética, permitindo que o consumo diário de energia seja aumentado (KLUSMEYER; CLARK, 1991; STAPLES et al., 2001).

No entanto, é preciso enfatizar que as diferentes fases de lactação podem influenciar o aproveitamento de energia devido ao balanço de energia em que o animal se encontra. Esse benefício foi confirmado por Onetti e Grummer, (2004) onde observaram que vacas no início de lactação utilizaram de forma mais eficiente o aumento densidade energética das rações

com gordura em relação a vacas no terço médio de lactação, atribuindo tal fato as diferenças na partição de nutrientes e possivelmente ao balanço energético dos animais suplementados.

Com relação à resposta produtiva Chilliard (1993) resumiu diversos estudos envolvendo a suplementação de gordura para vacas leiteiras, e observou também que, dependendo da fase de lactação em que se iniciou a suplementação, as respostas produtivas variaram de 0,31 a 0,72 kg de leite/dia/vaca. Staples et al. (2001) também citaram que a resposta produtiva da utilização de gordura dietética suplementar para vacas em lactação pode resultar em acréscimos na produção de leite de até 2,0 a 2,5 kg/vaca/dia, condicionando estes resultados a adaptação dos animais as dietas contendo gordura e ao tempo suficiente de avaliação para responderem as dietas ricas em energia.

Com relação a variações na composição do leite o teor de gordura e proteína do leite são as frações que sofrem alterações durante a suplementação com gordura nas deitas.

Com relação a variações na composição do leite, o teor de gordura e proteína do leite são as frações que estão sujeitas as maiores alterações durante a suplementação com gordura nas deitas. O processo de biohidrogenação ruminal pode causar indiretamente variações no teor de gordura do leite. Estudos na literatura têm demonstrado efeitos da variação no perfil de ácidos graxos da gordura do leite com a suplementação de fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras (WONSIL et al., 1994; DHIMAN et al., 2000; GRIINARI; BAUMAN, 2001).

Segundo Allen (2000), o processo de biohidrogenação é mais intenso, sendo maior de 90%, quando se fornece óleos nas rações. Esse processo pode ser realizado por rota alternativa, produzindo ácidos graxos específicos *cis-9, trans-11- CLA* e o *trans-10, cis-12 CLA* (DHIMAN et al., 2000; GRIINARI; BAUMAN, 2001). Estudos recentes demonstraram que o isômero *trans-10, cis -12 CLA* produzido durante o processo de biohidrogenação têm efeito inibidor sobre a síntese da gordura do leite na glândula mamária (CHOUINARD et al., 1999; GRIINARI; BAUMAN, 2001).

Embora tais fatores possam influenciar de forma ativa a variação no teor de gordura do leite, a intensidade de tal mudança é inerente ao tipo e nível de suplemento utilizado, e ao nível de fibra da dieta, especialmente advindas do volumoso utilizado em maior quantidade durante a suplementação. Onetti e Grummer (2003) verificaram que sais de cálcio de ácidos graxos em dietas com média de 3,6% de extrato etéreo tem menor impacto sobre a população microbiana no rúmen e conseqüentemente, não são esperadas reduções na síntese de gordura do leite. Entretanto, o processo de biohidrogenação é mais intenso com suplementos de gordura altamente insaturadas no rúmen como óleos vegetais, ou seja, fontes altamente insaturadas (GRUMMER, 1990; JENKINS, 1993).

O uso de fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras pode também promover redução no teor de proteína do leite. Por outro lado, em alguns casos a redução no teor de proteína do leite pode ocorrer possivelmente pelo simples efeito de diluição devido ao aumento da produção de leite quando são fornecidas rações com adição de gordura (GARNSWORTHY, 2002), ou por variações nas concentrações das frações protéicas no leite, como a concentração de caseína, ou nas variações nas concentrações de alguns hormônios que podem promover mudanças fisiológicas que afetam a síntese de proteína do leite (WU; WUBER, 1994).

Essa variação no teor de proteína do leite em resposta a suplementação de gordura tem sido citada na literatura (WU et al., 1993; WU et al., 1994; ROMO et al., 2000) e algumas hipóteses tem sido propostas procurando explicar a razão para este decréscimo.

A primeira teoria foi denominada de 'deficiência de glicose' onde, teoricamente, a substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis no rúmen por suplementos de gordura resultaria em menores quantidades de precursores para a síntese de glicose. No entanto, Canale et al. (1990) e Chow et al. (1990) teorizam que a redução da síntese de proteína do leite ocorre devido à redução da produção de proteína microbiana, que pode representar consequência da suplementação de gordura, pois o *pool* de aminoácidos no animal seria reduzido devido ao aumento da utilização de aminoácidos utilizados para a gliconeogênese. Esta redução poderia alterar a produção de proteína do leite de forma mais acentuada quando comparada ao suprimento de glicose.

Outra teoria descreve a resistência à insulina de alguns tecidos sobre a síntese de proteína do leite. Palmquist e Moser (1981) verificaram que a taxa de glicose em vacas leiteiras foi correlacionada negativamente com os aumentos das concentrações de insulina causada pela glicose. Estes autores verificaram que altas taxas de insulina foram observadas em vacas leiteiras que receberam altas quantidades de gordura nas rações, e assim esses altos níveis de gordura poderiam causar resistência à insulina a qual pode reduzir o fluxo de aminoácidos para a glândula mamária para síntese de proteína do leite.

O aumento da eficiência energética para produção de leite representa mais uma teoria que tenta explicar a possível redução da proteína do leite em vacas suplementadas com gordura. Durante a suplementação de gordura a síntese de novo de ácidos graxos do leite é diminuída devido à incorporação da adição de ácidos graxos da dieta no leite. Essa diminuição pode reduzir as exigências de acetato e aumentar o aproveitamento de glicose para síntese de lactose, a qual é associada com o aumento da produção de leite ou eficiência de produção de leite, resultando em diminuição do fluxo sanguíneo mamário. Assim, a redução

do fluxo sanguíneo mamário poderia reduzir o fornecimento de aminoácidos para a síntese de proteína do leite, levando a redução da concentração de proteína no leite.

Por último, Casper e Schingoethe (1989) sugerem que a relação da somatotropina da glândula pituitária pode ser reduzida pela elevada concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma, e que sua deficiência poderia reduzir a absorção de aminoácidos do sangue para proteína do leite.

A hipótese mais aceita envolve o aumento no fornecimento de energia consiste no suprimento de aminoácidos, onde este último não consegue atender a demanda para síntese de proteína na mesma intensidade na qual ocorre aumento do consumo de energia (CANT et al., 1993). Onetti e Grummer, (2004) utilizaram fontes de gordura e observaram baixa concentração de N-NH₃ ruminal como consequência de dietas com alta quantidade de silagem de milho e presença de ácidos graxos insaturados, que pode reduzir o crescimento microbiano e consequentemente o aproveitamento de aminoácidos disponíveis para a glândula mamaria e para síntese de proteína.

Smith et al. (1978) avaliaram a inclusão de suplemento de gordura contendo 40% de sebo e 60% farelo de soja tratado com formaldeído, perfazendo dieta total com 14,3% de extrato etéreo em vacas leiteiras no início de lactação. Estes autores verificaram redução no teor de proteína do leite para os animais suplementos com gordura. Canale et al. (1990), também verificaram redução no teor de proteína do leite de vacas leiteiras suplementadas com sais de cálcio de ácidos graxos.

Wu & Hurber (1993) revisaram dados de 49 experimentos, envolvendo 83 comparações entre rações com e sem adição de gordura em vacas leiteiras, e observaram que na maioria dos casos o teor de proteína foi reduzido pela adição de fontes de gordura nas rações. Estes autores concluíram que a redução do teor de proteína verificada nos estudos avaliados pode ser explicado em parte pelo aumento da produção de leite, sendo o grau de depressão dependente da fonte de gordura utilizada e resposta a suplementação.

2.8 Óleo de soja

Diferentes fontes de gordura tem sido utilizadas nas rações de vacas leiteiras, sendo que cada uma delas possuem características específicas que conferem diferentes efeitos sobre

a fermentação ruminal, digestibilidade de nutrientes, consumo de matéria seca, e produção e composição do leite. Allen (2000) enfatiza que respostas diferentes são esperadas com diferentes suplementos de gordura, pois os efeitos da suplementação são inerentes às características físicas e químicas específicas dos ácidos graxos suplementados.

O grau de saturação se apresenta como uma das principais características inerentes ao tipo de gordura suplementada que pode interferir diretamente no metabolismo ruminal podendo afetar o aproveitamento de nutrientes. Os produtos a base de soja possuem grande percentual de ácidos graxos insaturados, principalmente o óleo de soja, em média, com 75% de insaturação. Óleos vegetais nas rações de ruminantes apresentam efeitos desejáveis, como inibição da produção de metano, redução da concentração de N-NH_3 ruminal, aumento na eficiência da síntese microbiana e aumento de ácido linoléico conjugado (CLA) (PALMQUIST; MATOS, 2006).

Por outro lado, a utilização de óleos vegetais como fonte de gordura para ruminantes, mais especificamente vacas leiteiras, pode causar efeitos indesejáveis, como a redução na digestibilidade da matéria seca, redução na relação acetato:propionato e conseqüente diminuição da gordura do leite (VARGAS et al., 2002).

Rações de ruminantes normalmente contêm cerca de 2,5 a 3,0% de extrato etéreo, portanto, a suplementação de gordura deve levar em consideração a quantidade e a fonte de lipídios a ser utilizada para que não haja mudanças no padrão de fermentação ruminal, já que gorduras insaturadas possuem efeitos inibitórios sobre microrganismos ruminais (PALMQUIST, 1991; JENKINS, 1993). Ueda et al. (2003) enfatizaram que se tem poucas informações sobre o uso de óleos na digestibilidade de vacas leiteiras lactantes, já que a inclusão de níveis de 2 a 3% de óleo na matéria seca total da dieta têm importância prática.

Segundo Bem-Salem (1993), óleos reduzem a digestibilidade aparente total de carboidratos quando se fornece silagem de milho como volumoso quando comparado com feno de gramíneas. Assim, os efeitos de ácidos graxos insaturados pode ser variável devido às diferenças na dieta basal (UEDA et al., 2003). Vargas et al. (2002) avaliaram a suplementação de 4,6% de óleo de soja na matéria seca total, em dietas a base de silagem de sorgo em vacas mestiças Holandês-Zebu com aproximadamente 30 dias de lactação, sendo avaliado o consumo de matéria seca e fermentação ruminal. Estes autores concluíram que os lipídios insaturados da dieta inibiram as bactérias ruminais gram-positivas e estimularam as bactérias produtoras de propionato, causando redução na relação acetato:propionato e na produção de metano, onde o aumento da proporção molar de propionato se deu pela redução da produção de acetato e butirato. Elliot et al. (1993) também observaram redução na produção de acetato,

acompanhada de tendência para aumento da concentração de propionato, quando avaliaram quatro vacas da raça Holandesas canuladas no rúmen e com 49 dias em lactação. Estes animais receberam óleo de milho e feno de alfafa como volumoso basal.

Explorar o processo de biohidrogenação pela característica específica de ácidos graxos poliinsaturados como óleos na tentativa de aumentar a concentração de ácidos graxos como o *cis-9 trans-11* CLA no leite tem sido objeto de estudo nos últimos anos. Isso pode ser justificado pelo aumento do processo de biohidrogenação quando grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados são fornecidas nas rações (ZHENG et al., 2005).

Kelly et al. (1998) demonstraram que a suplementação de óleos vegetais ricos em ácido linoléico aumentaram a concentração de CLA no leite. Zheng et al. (2005) avaliaram a suplementação de óleo de soja, de milho e caroço de algodão com níveis de inclusão de 2% da matéria seca total. Estes autores observaram aumento de duas a três vezes mais no conteúdo do isômero *cis-9 trans-11* CLA para as rações com óleos. Santos et al. (2001) avaliaram a inclusão de óleo de soja (4,6% da matéria seca) como fonte de gordura sobre a produção de CLA no leite, e concluíram que a suplementação de óleo de soja aumentou significativamente o teor de CLA na gordura do leite.

Huang et al. (2008) avaliaram o efeito da suplementação de 5% de óleo de soja na matéria seca total em 36 vacas da raça Holandesa no terço médio de lactação, sendo analisados os parâmetros de fermentação ruminal e o perfil de ácidos graxos da gordura do leite. Foi utilizada a silagem de milho e feno de alfafa como volumoso. Estes autores verificaram que a suplementação de gordura teve pouco ou nenhum efeito sobre a fermentação ruminal, e enfatizou que para maximizar o conteúdo de CLA no leite, o ideal seria suplementar sementes ricas em ácido linoléico (C18:2), a combinação de óleos ricos em C18:2, e sais de cálcio com CLA, sendo do ponto de vista econômico, o óleo de soja a melhor opção.

É preciso enfatizar que respostas diferentes são obtidas de acordo com o tipo de volumoso e ainda, e não menos importante a fase fisiológica na qual o animal se encontra. A utilização de fontes de gordura especialmente os óleos vegetais como o óleo de soja em rações de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação não tem gerado reduções no consumo de matéria em alguns experimentos, sendo esta resposta ligada a qualidade da FDN da forragem tipo de volumoso e a relação volumoso:concentrado (ONETTI et al., 2001). Santos et al. (2009) avaliaram a inclusão de óleo de soja em 8% da matéria seca total em rações de vacas no período de transição e não observaram reduções no consumo.

Isso ocorre porque alterações na dinâmica ruminal e processos digestivos pós ruminais são esperadas em animais que passam da fase de período seco para início de lactação. Pode haver diminuição da taxa de passagem, de forma que ocorra aumento do aproveitamento da fibra da dieta, influenciando também o consumo de energia líquida, entretanto, os dados referentes à suplementação com óleo de soja ainda mostram resultados inconsistentes relacionados à digestibilidade aparente total (JENKINS, 1993; UEDA et al., 2003).

O óleo de soja possui em torno de 75% de ácidos graxos insaturados em sua composição, de modo que estes podem atuar na diminuição da produção de metano e do aumento da produção de CLA (ALLEN, 2000; ONETTI; GRUMMER, 2004; PALMIQUIST; MATTOS, 2006). No entanto, Ueda et al. (2003) enfatizaram que há uma falta de informações da utilização de óleo de soja na digestibilidade de vacas leiteiras, principalmente em início de lactação, de modo semelhante, poucos estudos tem demonstrado os efeitos gerados nos parâmetros reprodutivos.

O uso de óleos nas rações de vacas leiteiras tem potenciais efeitos sobre o metabolismo ruminal (BAUMAN; GRIINARI, 2001). Porém, é preciso considerar que alterações no padrão de fermentação ruminal com a inclusão de fontes de gordura altamente insaturadas pode promover além de reduções no consumo de matéria seca, diminuição na digestibilidade da fibra (NRC, 2001), embora sejam aumentados os teores dos isômeros de CLA na gordura do leite visando produtos mais desejáveis ao consumidor.

Portanto, apesar do potencial de serem observadas pequenas alterações no consumo de matéria seca para animais suplementados com óleos vegetais, o óleo de soja possui alto potencial para aumentar a ingestão de energia em vacas leiteiras visto que não há uma confirmação científica de que a aceitabilidade dos animais pelas rações que utilizaram óleos vegetais pode ser considerada fator promotor da redução do consumo.

2.9 Sais de cálcio de ácidos graxos

Diversos tipos de suplementos comerciais contendo lipídios inertes no rúmen estão disponíveis no mercado. O mais comum deles são os sais de cálcio de ácidos graxos, obtido a partir de ácidos graxos de cadeia longa. Esses ácidos graxos reagem com os sais de cálcio, unidos na forma de um sal do tipo $R-COO-Ca$, popularmente conhecido como sabão de cálcio.

Considerando que ocorram possíveis efeitos deletérios da suplementação de algumas fontes de gordura insaturadas sobre a fermentação ruminal, esses produtos comerciais teriam como principal vantagem fornecer ácidos graxos essenciais que iriam passar direto para o abomaso sem que ocorresse liberação de ácidos graxos no rúmen, e conseqüentemente, intensa biohidrogenação ruminal, não afetando diretamente a população microbiana. Para tal, a ligação entre o cálcio (Ca) e os ácidos graxos não deve ser rompida. Existem no mercado sais de cálcio de ácidos graxos formados a partir de óleo de palma, colza e soja, sendo que os dois últimos são mais insaturados e mais dissociados e biohidrogenados no rúmen.

De acordo com Palmquist e Mattos (2006), embora os sais de cálcio se dissociem no rúmen, não se observa aumento na concentração de ácidos graxos não esterificados em nível suficiente para prejudicar o metabolismo microbiano. Além disso, os sais de cálcio são considerados fontes de gordura muito digestíveis. Klusmeyer et al. (1991) utilizaram sais de cálcio em 4% da dieta total em vacas fistuladas no rúmen e duodeno e, observaram biohidrogenação de 33%, concluindo que os ácidos graxos são somente parcialmente protegidos da degradação ruminal. Os sais de cálcio utilizados neste estudo são de óleo de palma.

Sempre que se descreve o uso de fonte alternativa de gordura nas rações de animais é preciso enfatizar que o período de adaptação e a aceitabilidade da fonte de gordura podem ser considerados fatores determinantes para que se tenha resposta de desempenho adequada dos animais. Allen (2000), em ampla revisão de literatura avaliou estudos que observaram o consumo de matéria seca de diferentes fontes de gordura comumente utilizadas nas rações de vacas leiteiras. Este autor observou que de 24 experimentos utilizando os sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma como fonte de gordura, 11 apresentaram redução do consumo de matéria seca. Esses resultados, segundo este autor, podem ser atribuídos à questão da aceitabilidade desta fonte de gordura, levando dessa forma ao baixo consumo encontrado.

Estudos têm avaliado possíveis efeitos desses suplementos sobre a fermentação ruminal. Grummer (1988) avaliou dois suplementos comerciais fornecidos para vacas leiteiras, sendo diferentes na composição de ácidos graxos, especialmente no teor de C18, e não observou efeitos dos suplementos sobre a fermentação ruminal. Palmquist (1989) comparou cinco suplementos comerciais de gordura fornecidos entre 2,85 e 5,70% da MS total em vacas Jersey, onde os suplementos diferiam na composição dos ácidos graxos e tecnologia de fabricação. Não houve diferença na digestibilidade de nutrientes, sendo que somente a fermentação ruminal foi levemente afetada quando foi utilizado os sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma.

Palmquist et al. (1993) observaram efeitos mínimos da suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos juntamente com sebo sobre os parâmetros ruminais e digestibilidade de nutrientes em vacas canuladas no rúmen e íleo, aos 60 dias de lactação. Palmquist et al. (1991) não observaram alterações na digestibilidade, consumo de matéria seca, fermentação ruminal e produção e composição do leite de vacas Jersey recebendo entre 500 e 1000g/dia de dois tipos comerciais de sais de cálcio, tendo como volumoso feno moído e silagem de milho.

Schauff e Clark (1992) avaliaram a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma com níveis de 0, 3, 6 e 9% da MS total em vacas Holandesas fistuladas no rúmen e no início de lactação, sendo utilizado como volumoso feno de alfafa moído e silagem de milho. Estes autores observaram que o consumo de matéria seca reduziu linearmente com o aumento dos níveis de sais de cálcio na dieta, definindo como nível ótimo 6% da MS. A produção de leite também reduziu com o aumento dos níveis de sais de cálcio. De acordo com esses resultados estes autores concluíram que a aceitabilidade dos sais de cálcio pode ser problema quando fornecido acima de 6% da matéria seca da dieta.

Apesar de ocorrer redução no consumo de matéria seca em alguns estudos, Jenkins (1993) relata que normalmente o consumo de energia líquida não é reduzido, ou seja, o aumento na densidade energética das rações compensaria a redução no consumo, não afetando a produção de leite. Onetti e Grummer (2004) comprovaram tal hipótese em revisão de literatura onde estes autores compilaram dados de 41 experimentos que avaliaram a suplementação de diferentes fontes e níveis de gordura nas rações de vacas em lactação. De um total de 23 experimentos analisados que usaram os sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma como fonte de gordura, foi observada significativa redução no consumo de matéria seca de 0,97 kg/dia. Entretanto, quando analisada a produção de leite de 21 destes estudos à média de produção de leite foi aumentada em 1,29 kg/dia. Dessa forma, pressupõem-se que o consumo de energia líquida não foi afetado pela redução do consumo de matéria seca.

Onetti et al. (2001) observaram que não houve redução no consumo de energia líquida em animais submetidos às rações com níveis de inclusão de 4% na matéria seca de sebo e gordura branca, com estes animais apresentando redução no consumo de matéria seca quando comparada as rações controle e com níveis de 2% de inclusão destas fontes de gordura.

Ferguson et al. (1990) avaliaram o desempenho de dois rebanhos de vacas leiteiras com e sem a adição de sais de cálcio de ácidos graxos, perfazendo um total de 384 animais, onde estes autores concluíram que as respostas na produção apresentaram ser viáveis, no entanto, estes autores recomendam que a inclusão de quantidades acima de 5% da matéria seca da dieta pode vir a reduzir o desempenho dos animais.

Em relação à utilização de sais de cálcio diferentes respostas são esperadas de acordo com a fonte de volumoso utilizada. Onetti e Grummer (2004) verificaram em estudos que avaliaram fontes de gorduras com diferentes proporções e tipos de volumosos nas rações que a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma em dietas com quantidades iguais ou superiores a 60% de silagem de milho como volumoso na matéria seca total, proporcionaram aumento linear da produção de leite em 0,33kg/dia quando comparada a utilização de feno de alfafa em quantidade igual ou maior a 60% da MS, e também a mistura entre 59:41 e 41:59 alfafa silagem de milho no volumoso na matéria seca total.

Dessa forma, a utilização de gordura consideradas como protegidas da degradação ruminal tem como principal vantagem a redução do efeito tóxico sobre os microrganismos ruminais (JENKINS, 1993). No entanto, reduções no consumo de matéria seca em níveis consideráveis podem causar baixo desempenho animal por conseqüente consumo insuficiente de energia líquida para síntese de leite (ONETTI; GRUMMER, 2004).

Ainda, atualmente estão disponíveis no mercado fontes alternativas de sais de cálcio de ácidos graxos com diferenças marcantes no tipo de gordura utilizada. Como exemplo, citam-se os sais de cálcio de óleo de soja ou os sais de cálcio de ácidos graxos insaturados, recentemente disponíveis no mercado e ainda sem a devida avaliação pela comunidade acadêmica.

A inclusão de sais cálcio de ácidos graxos na dieta de vacas leiteiras de alta produção pode gerar diferentes efeitos sobre a fermentação ruminal de acordo com a fase de lactação. Há uma redução significativa da relação acetato: propionato para os animais no início de lactação, provavelmente pela grande variação existente no consumo e pelos fatores ligados ao metabolismo.

Ao decorrer da lactação essa redução da relação acetato: propionato ocorre também nas vacas em terço médio de lactação, que pode estar ligado ao pelo aumento do consumo de matéria seca, que conseqüentemente altera a taxa de passagem e pode reduzir a degradação da fibra, resultando em menor produção de ácidos graxos voláteis, especialmente o acetato e com isso pode ocorrer uma redução da porcentagem de gordura no leite, entretanto essa redução pode auxiliar na melhora do balanço energético e da atividade ovariana no início do pós-parto (BUTLER et al., 2004; ONETTI; GRUMMER, 2004).

Os sais de cálcio de ácidos de cadeia longa e algumas sementes de oleaginosas geram poucos efeitos sobre a população microbiana, sobre os processos de degradação e absorção ruminal de nutrientes (ALLEN, 2000; PALMQUIST; MATTOS, 2006). Entretanto, pode

haver benefícios na digestibilidade da FDN quando utilizado sais de cálcio de ácidos graxos em rações de vacas leiteiras.

Normalmente, a inclusão média de gordura em dieta de vacas leiteiras é de 3,5%, de modo que, alguns estudos resultam em quedas de até de 2% na digestibilidade da matéria seca, para algumas oleaginosas e gorduras saturadas, entretanto, tem sido demonstrado aumentos o de até 1,7% pela suplementação com sais de cálcio de ácidos graxos, que pode estar associado ao tipo de fibra e da relação volumoso:concentrado, de modo que, o estabelecimento de um pH ruminal entre 6,5 e 7,0 pode contribuir com a diminuição da quebra das ligações dos ácidos graxos com o cálcio, que pode vir a interferir na fermentação ruminal e na produção de ácido linolêico conjugado (CLA) (ONETTI; GRUMMER, 2004).

Em estudos recentes a utilização de sais de cálcio de ácidos graxos em vacas no período de transição não tem reduzido o consumo de matéria seca. Duske et al. (2009) avaliaram a inclusão de sais de cálcio de ácidos graxos em rações de vacas Holandesas no período de transição com média de produção de leite de 34,0 kg/vaca/dia e um total de 5,9 % EE na matéria seca total no pós-parto. Estes autores não observaram redução do consumo de matéria seca no período pós-parto. Andersen et al. (2008) e Cerri et al. (2009) avaliaram vacas Holandesas com suplemento comercial de ácidos graxos de óleo de palma e óleo de soja com dietas de 8,0 % e 5,5 % de EE na matéria seca total respectivamente para as rações com fonte de gordura. Estes autores também não observaram redução no consumo de matéria seca.

Dessa forma, a inclusão de ácidos graxos de sais de cálcio em rações de vacas leiteiras pode ser considerada uma ótima alternativa como fonte de gordura, na tentativa de suprir a demanda energética de vacas leiteiras no início de lactação. Entretanto, é preciso considerar um período de adaptação e a aceitabilidade dessa fonte de gordura, pois em estágios críticos de baixo consumo de matéria seca os animais submetidos a essa rações pode não apresentar o desempenho esperado.

3.1 Materiais e Métodos

3.1.1 Animais e rações experimentais

Este experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), em Pirassununga, no período de 04 de maio de 2008 a 21 de abril de 2009. Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandesa, multíparas e gestantes, com parto previsto para 35 dias após o início do fornecimento das rações experimentais. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado, e avaliados durante o período pré-parto, ao parto, e até o 84º dia de lactação (12 semanas pós-parto). As vacas foram alojadas em estábulo tipo “free-stall”, providos de separação individual, de forma que cada animal permanecia em sua respectiva baia, de forma a possibilitar controle individual do consumo de alimentos.

Os animais que foram selecionados apresentaram características semelhantes entre si para melhor distribuição nas rações avaliadas. As variáveis utilizadas para a seleção dos animais foram a produção de leite na lactação anterior, peso corporal e escore de condição corporal 30 dias antes do parto, ordem de partos, duração do período seco e do intervalo de partos.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber as seguintes rações experimentais, sendo: 1) controle (C), composto por ração basal com aproximadamente 2,5% de extrato etéreo; 2) óleo de soja (OS), composto por ração com aproximadamente 5,5% de extrato etéreo, baseada na inclusão de 3,0% de óleo de soja no concentrado; e 3) sais de cálcio de ácidos graxos insaturados (Megalac-E®, Química Geral do Nordeste e Arm & Hammer, Inc.) (SC), composto por ração com aproximadamente 5,5% de extrato etéreo, baseada na inclusão de 3,0% de sais de cálcio de ácidos graxos insaturados no concentrado.

As rações experimentais foram fornecidas a partir de 35 dias da data de parto prevista, e fornecidas até o 84º dia pós-parto. O início do fornecimento das rações experimentais foi iniciado no 35º dia em relação à data de parto prevista para que as vacas fossem alimentadas com as rações experimentais no mínimo 21 antes do parto, na eventualidade de algum parto ser antecipado. Na média, as vacas pariram com sete dias de antecedência em relação à data

prevista, de forma que todas as vacas receberam as rações experimentais no mínimo três semanas antes do parto previsto.

As rações foram formuladas de acordo com o NRC (2001) para os períodos pré e pós-parto. Cada animal recebia a mesma ração durante todo o período experimental, respeitando a especificação das rações, ou seja, ração de vaca pré e de pós-parto. Assim, durante todo o experimento, as vacas submetidas às rações controle, óleo de soja e sais de cálcio recebiam a mesma concentração de extrato etéreo independentemente do período em relação ao parto.

O volumoso utilizado durante todo o período experimental foi à silagem de milho, e as rações foram fornecidas na forma de ração completa, com o concentrado misturado ao volumoso. As respectivas rações e água foram fornecidas “ad libitum” durante todo período experimental. A proporção dos ingredientes e nutricional do concentrado e ração total, assim como a respectiva composição bromatológica, encontram-se nas tabelas 8 e 9.

Diariamente foram feitas pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada ração experimental, para estimativa do consumo individual. Os animais foram arraçoados de acordo com o consumo de matéria seca no dia anterior, de forma a ser mantido porcentual de sobras das dietas, diariamente, entre 5 e 10% do fornecido para não haver limitação de consumo. Foram coletadas amostras diárias dos alimentos fornecidos e sobras, que foram misturadas e retiradas amostra composta referente ao período de uma semana. As amostras coletadas foram armazenadas a -20°C para posteriores análises químico-bromatológicas no Laboratório de Nutrição Animal do VNP-FMVZ-USP.

3.1.2 Coleta de amostras e análises laboratoriais

Nos alimentos fornecidos e nas amostras de sobras foram analisados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e lignina de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25.

Os carboidratos totais (CT) foram calculados segundo Sniffen et al. (1992), em que: $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$. Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados segundo Hall (1998) onde: $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ Uréia} + \% \text{ Uréia}) + \%EE + \%MM + \%FDN]$. Os nutrientes digestíveis totais foram calculados conforme equações do

NRC (2001), em que: $NDT = CNFD + PBD + (AGD * 2,25) + FDND - 7$, onde PBD, CNFD, FDND e AGD representam o total destes nutrientes digestíveis. Os nutrientes digestíveis totais observados $NDT = PBd + FDNd + (EEd * 2,25) + CNFd$ foram calculados de acordo com Weiss et al. (1992). A proporção dos ingredientes nos concentrados e dieta total, assim como a respectiva composição bromatológica das rações experimentais encontra-se nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Composição em ingredientes e nutricional dos concentrados experimentais durante os períodos pré e pós-parto, segundo as rações experimentais, e da silagem de milho

Ingrediente (%ms)	Concentrados experimentais					
	Pré-parto			Pós-parto		
	C ¹	OS ²	SC ³	C ¹	OS ²	SC ³
Milho moído	53,56	41,31	41,31	51,49	47,00	47,77
Farelo de soja	37,91	37,87	37,87	41,77	40,20	40,20
Megalac-E	-	-	11,97	-	-	6,25
Óleo de soja	-	11,97	-	-	5,70	-
Uréia	3,88	4,20	4,20	0,74	1,09	1,09
Sulfato de amônia	0,32	0,32	0,32	0,09	0,09	0,09
Bicarbonato de sódio	-	-	-	1,53	1,53	1,53
Óxido de magnésio	-	-	-	0,38	0,38	0,38
Fosfato bicálcico	0,32	0,32	0,32	1,04	1,04	1,04
Calcáreo	1,60	1,60	1,60	1,87	1,87	0,55
Nutron vitmin ⁴	1,12	1,12	1,12	0,49	0,49	0,49
Nutron vitabovi 500 ⁵	0,64	0,64	0,64	-	-	-
Sal comum	0,64	0,64	0,64	0,60	0,60	0,60

¹Controle; ² óleo de soja; ³Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®). ⁴Composição por kg do produto: Mg-10g; S-9g; Zn-23.750mg; Cu-5625mg; Mn-18125mg; Fe-5.000mg; Co-125mg; I-312mg; Se-144mg; F (máx.) 900mg; Vit. A- 2000UI; Vit E – 12500mg; Vit D – 5000UI . ⁵Composição por kg do produto: Vit. A- 8000UI; Vit E – 50000mg; Vit D – 2300UI.

Tabela 2– Composição em ingredientes e nutricional das rações experimentais durante os períodos pré e pós-parto

Ingrediente (%MS)	Rações experimentais					
	Pré-parto			Pós-parto		
	C ¹	OS ²	SC ³	C ¹	OS ²	SC ³
Silagem de milho	75,02	75,02	75,02	47,02	47,02	47,02
Milho moído	13,38	10,32	10,32	27,28	24,90	25,31
Farelo de soja	9,47	9,46	9,46	22,13	21,30	21,30
Megalac-E	-	-	2,99	-	-	3,31
Óleo de soja	-	2,99	-	-	3,02	-
Uréia	0,97	1,05	1,05	0,39	0,58	0,58
Sulfato de amônia	0,08	0,08	0,08	0,05	0,05	0,05
Bicarbonato de sódio	-	-	-	0,81	0,81	0,81
Óxido de magnésio	-	-	-	0,20	0,20	0,20
Fosfato bicálcico	0,08	0,08	0,08	0,55	0,55	0,55
Calcáreo	0,40	0,40	0,40	0,99	0,99	0,29
Nutron vitmin ⁴	0,28	0,28	0,28	0,26	0,26	0,26
Nutron vitabovi 500 ⁵	0,16	0,16	0,16	-	-	-
Sal comum	0,16	0,16	0,16	0,32	0,32	0,32
Nutrientes						
Matéria seca	47,54	47,81	47,45	61,80	61,94	61,53
Matéria orgânica	92,41	92,58	91,84	92,51	92,68	92,84
Matéria mineral	7,58	7,41	8,15	7,49	7,32	7,16
Proteína bruta	15,68	15,12	15,12	18,79	18,68	18,72
Extrato etéreo	2,73	5,59	5,05	2,83	5,69	5,41
FDN ⁶	47,21	46,56	46,56	36,24	35,60	35,69
FDA ⁷	29,82	29,54	29,54	21,21	21,00	21,02

¹Controle; ² óleo de soja; ³Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®); ⁴Composição por kg do produto: Mg-10g; S-9g;; Zn-23.750mg; Cu-5625mg; Mn-18125mg; Fe-5.000mg; Co-125mg; I-312mg; Se-144mg; F (máx.) 900mg; vit. A- 2000UI; vit E – 12500mg; vit D – 5000UI .

⁵Composição por kg do produto: Vit. A- 8000UI; vit E – 50000mg; vit D – 2300UI.

Os teores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente neutro livre de cinza e proteína (FDNcp), e fibra detergente ácido (FDA) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest et al. (1991), utilizando-se α -amilase e sem adição de sulfato de sódio na determinação do FDN, em Sistema Ankon®.

Na determinação da digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes a quantidade total de matéria seca fecal excretada foi estimada pela concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). As fezes foram coletadas semanalmente, sempre antes das ordenhas da manhã e da tarde, sendo acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer à -20°C, e ao final do período de coleta foi feita a amostra composta por animal com base no peso seco ao ar.

As amostras de silagem, sobras e fezes foram pré-secas em estufa com ventilação forçada (60°C/72 horas), e, em conjunto com as demais amostras de ingredientes, foram processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 2 mm.

Para avaliação dos teores dos componentes indigestíveis, as amostras processadas foram acondicionadas em sacos de tecido não-tecido (TNT-100g/m²), com dimensões de 4 x 5 cm. As alíquotas foram acondicionadas em todos os sacos, segundo a relação de 20 mg de matéria seca por centímetro quadrado de superfície (NOCEK, 1988).

Antes da incubação das amostras duas vacas da raça Holandesa foram adaptadas durante 7 dias com ração a base de farelo de soja e milho moído, e recebendo silagem de milho como volumoso. Posteriormente ao período de adaptação dos animais, as amostras foram incubadas no rúmen por período de 288 horas, segundo adaptação de técnica descrita por (CASALI, 2007).

Após a retirada do rúmen os sacos foram lavados com água corrente até o total clareamento desta, e imediatamente conduzidos à estufa de ventilação forçada (60°/72 horas). Após este período, os sacos foram submetidos à secagem em estufa não ventilada (105°/45 minutos), sendo retirados, acondicionados em dessecador (20 sacos/dessecador), e pesados, obtendo-se a matéria seca indigestível.

Posteriormente, os sacos foram submetidos ao tratamento com detergente ácido (Mertens, 2002) por uma hora, em equipamento analisador de fibra Ankon®. Após este período foram lavados com água quente e acetona, sendo secos e pesados conforme procedimento anterior. Ao final deste tratamento, obteve-se a FDA_i.

Para avaliação dos parâmetros de fermentação ruminal, as amostras de líquido ruminal foram coletadas com a utilização de sonda esofágica em dois tempos, antes (tempo zero) e três horas (tempo três) após a alimentação da manhã. Logo após a coleta foram determinados os valores de pH ruminal utilizando potenciômetro. As amostras foram armazenadas em caixa térmica e encaminhadas ao Laboratório de Bromatologia da FMVZ-USP.

No laboratório as amostras foram centrifugadas a 2000g por 15 minutos, 1 ml do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio e adicionando-se 0,2 ml de ácido fórmico P.A., arrolhado e identificado e armazenado em congelador a -20°C para determinação de AGV. Da mesma amostra 2 ml do sobrenadante foi pipetado e armazenado em tubos de ensaio contendo 1 ml de ácido sulfúrico a 1 N, para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

A metodologia utilizada para análise de ácidos graxos de cadeia curta foi realizada utilizando cromatógrafo a gás (Modelo 9001 Gas Chromatograph, Marca Finnigan) equipado com coluna de vidro de 02 metros de comprimento x 1/4", empacotada com 80/120 Carbowax B-DA/4% Carbowax 20M. Os gases utilizados foram o nitrogênio como gás de arraste na vazão de 25 ml/minuto, oxigênio como gás comburente na vazão de 175 ml/minuto,

e hidrogênio como gás combustível na vazão de 15 ml/minuto. As temperaturas utilizadas do vaporizador foi de 220°C, do detector de ionização de chamas de 250°C e da coluna de separação de 195°C por 03 minutos, aumentando 10 °C/minuto até 200 °C.

Soluções padrões a 0,1 Normal de ácido acético, propiônico e butírico foram preparadas e padronizadas com hidróxido de potássio (KOH) 0,1 Normal, afim de produzir solução padrão de ácidos graxos voláteis de concentração conhecida.

As determinações foram realizadas injetando-se 01 µl de amostra em cromatógrafo integrado a computador, que processava os cálculos de quantificação, utilizando-se do software BORWIN versão 1.21 para cromatografia.

O nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foi determinado pelo método de ácido salicílico. Foram adicionados aos tubos contendo amostras de líquido ruminal e ácido sulfúrico a 1 Normal 1 ml de tungstato de sódio a 10%, e posteriormente as amostras foram centrifugadas a 1200 g durante 15 minutos. Em seguida foram pipetados 25 µl do sobrenadante a um tubo limpo e neste adicionados 5 ml do reagente fenol e 5ml de hipoclorito.

Os tubos foram agitados para homogeneização das amostras e colocados em banho maria a 37°C durante 15 minutos adquirindo coloração azul. Após resfriamento as amostras foram analisadas em espectrofotômetro quanto a sua absorbância e os resultados obtidos foram utilizados em equação de regressão para calcular a concentração em mg/dl, onde: Concentração de N-NH₃ (mg/dl) = Absorbância – (a)/b; b= r² da equação elaborada a partir do padrão.

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, as 6:30 e as 15:30 horas, sendo a produção de leite registrada diariamente durante todo o período experimental. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC) segundo fórmula de Sklan et al. (1992), onde PLC = (0,432 + 0,1625 * teor de gordura do leite) * kg de leite.

As amostras utilizadas para análise do teor de gordura do leite foram obtidas semanalmente durante todo o período experimental, sendo cada amostra proveniente das duas ordenhas diárias. Após o parto foi iniciada a coleta de leite para análises laboratoriais a partir do quinto dia de lactação. As análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do VNP-FMVZ-USP.

O escore de condição corporal (ECC) e o peso corporal foram avaliados durante todo o período experimental. As mensurações do ECC foram realizadas a intervalos semanais, segundo metodologia proposta por Wildman et al. (1982) e desenvolvida por Edmonson et al. (1989). Os animais foram pesados semanalmente, logo após a ordenha da manhã, e no dia do

parto (nas primeiras 24 horas pós-parto). Foram avaliadas as mudanças de peso durante o período pré-parto, ao parto e em todo período pós-parto.

As coletas de sangue foram realizadas semanalmente durante todo o período experimental por punção da veia e/ou artéria coccígea, anteriormente ao fornecimento das rações no período da manhã. Também, foi coletado sangue das vacas nas primeiras 24 horas após o parto. As amostras foram coletadas em tubos vacuolizados (vacutainer) de 10 ml para dosagem dos parâmetros sanguíneos glicose, ácidos graxos não-esterificados, beta-hidroxibutirato.

Imediatamente após coleta as amostras foram coletadas refrigeradas e centrifugadas a 2000 g durante 15 minutos, para a separação do soro. O centrifugado obtido foi transferido para tubetes plásticos, identificados e armazenados a -20°C, até o procedimento das análises laboratoriais.

As análises das concentrações dos parâmetros sanguíneos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab®, Celm®, Randox®) que utilizam método enzimático colorimétrico de ponto final, ou cinético. A leitura foi realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 - CELM®) e em leitora de microplacas (Marca Asys, Modelo Expert Plus-UV).

Para a estimativa de síntese de proteína microbiana foram coletadas amostras de leite de dois dias alternados para análise de alantoina, sendo provenientes das duas ordenhas diárias. Uma alíquota de 10 mL de leite foi diluída com 5 mL de ácido tricloroacético a 25%, sendo filtrada em papel-filtro e congelada para posterior determinação dos níveis de uréia e alantoina no leite desproteínizado.

Alíquotas de 50 mL de urina (amostra spot) foram obtidas de todas as vacas no 16º dia do período experimental, aproximadamente 4 horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de ácido sulfúrico a 0,036N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de uréia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética em aparelho SBA-200 CELM. O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras spot, segundo Oliveira et al. (2001). A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a

partir da proposição de 24,05 mg/kg de peso vivo (PV) (Chizzotti, 2004). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dl) na amostra spot de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia, para o cálculo do balanço de nitrogênio. Os níveis de alantoína na urina e no leite desproteínizado e os de ácido úrico na urina foram determinados pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção total de derivados de purina foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação $Pabs = (DP - 0,236 \cdot PV \cdot 0,75) / 0,84$, em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e $0,236 \cdot PV \cdot 0,75$, a excreção endógena de derivados de purina (Orellana Boero et al., 2001). Foram avaliadas também as purinas absorvidas, considerando-se a excreção endógena de $0,512 \cdot PV \cdot 0,75$ e a recuperação de 0,70 encontradas por Gonzalez- Ronquillo et al. (2003). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação (Chen & Gomes, 1992): $Nmic = (70 \cdot Pabs) / (0,83 \cdot 0,134 \cdot 1.000)$, em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol); 0,134, a relação N purina: N total nas bactérias (Valadares et al., 1999); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de média (Tukey), utilizando-se o programa SAS, versão 8.0, adotando-se nível de significância de 5%.

3.1.3 Análises estatísticas

As variáveis, consumo de matéria seca, produção de leite, produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, teor de gordura do leite, escore de condição corporal e mudança de condição corporal, peso corporal e mudança de peso corporal, e parâmetros sanguíneos foram analisadas pelo procedimento PROC MIXED do SAS (SAS, 1999), utilizando modelo linear misto para medidas repetidas no tempo.

Esse procedimento permite melhor ajuste na estrutura da matriz que descreve as covariâncias de medidas repetidas no tempo. Na avaliação dessas variáveis foram considerados os efeitos fixos de tratamento (rações experimentais), tempo (semanas pré ou pós-parto) e interação rações experimentais x tempo. Posteriormente foram realizados

contrastes ortogonais entre as rações controle x fontes de gordura (rações óleo de soja + sais de cálcio), e óleo de soja x sais de cálcio.

O peso corporal e a variação do peso corporal foram avaliados em diferentes períodos: 1) período pré-parto: mudança de peso dos 28 aos 3 dias pré-parto; 2) parto: mudança de peso de 3 dias pré-parto em relação ao peso no dia do parto (primeiras 24 horas pós-parto); e 3) período pós-parto: mudança de peso do parto em relação aos dias avaliados até o 84º dia pós-parto. Na análise da mudança de peso corporal, em função das diferenças no peso corporal no início do período experimental, o peso aos 20 dias pré-parto e o peso após o parto foram utilizados como covariáveis se houver diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade, nos períodos pré e pós-parto, respectivamente.

Os dados obtidos estão expressos pela média como medida de tendência central e o coeficiente de variação, como medida de dispersão dos dados em relação a média. O nível de significância utilizado para rejeitar a hipótese h_0 (hipótese de nulidade) para todos os dados obtidos foi de 5%, ou seja, para nível de significância menor que 0,05 foi considerado que houve diferença estatística entre as variáveis analisadas.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Consumo e digestibilidade da matéria seca e de nutrientes

As rações experimentais não influenciaram ($P>0,05$) o consumo de matéria seca (CMS) expresso em quilos por dia no período pré-parto (Tabela 3). De mesma forma não foi observado efeito no consumo de matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), carboidratos não fibrosos (CCNF), carboidratos totais (CCT), nutrientes digestíveis totais (CNDT). No período pré-parto somente foi observado efeito ($P<0,05$) no consumo de extrato etéreo (CEE). Em relação ao consumo de extrato etéreo foi observado efeito ($P<0,05$) para as rações suplementadas com fontes de lipídeos em relação à ração controle. Como não houve efeito sobre o consumo de matéria seca as rações suplementadas com fontes de lipídeos apresentaram uma superioridade em média de 30% no consumo de extrato etéreo em relação ao controle. O consumo de carboidratos não fibrosos como mencionado anteriormente não apresentou efeito em relação às rações, no entanto foi observado efeito quando se comparou a ração controle com as rações suplementadas com fontes de lipídeos, apresentando uma superioridade para a ração controle. Este fato ocorreu devido ao fato da substituição da fonte de energética de carboidratos por lipídeos, visto que o consumo de matéria seca não sofreu influência das rações.

O consumo de matéria seca (kg/dia) foi influenciado pelas semanas no período pré-parto bem como o consumo de matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), carboidratos não fibrosos (CCNF), carboidratos totais (CCT), extrato etéreo (CEE), nutrientes digestíveis totais (CNDT). As variáveis em questão não apresentaram efeito de interação entre semanas e rações experimentais no período pré-parto. A variação do CMS para as rações com fontes de gordura foi semelhante no período pré-parto, de forma que os animais que consumiram ambas as rações com sais de cálcio de ácidos graxos e óleo de soja iniciaram a segunda semana, pré-parto com médias de consumo de 10,0 kg/MS/dia enquanto os animais que consumiram a ração controle iniciaram a segunda semana pré-parto consumindo 11,0 kg/dia de MS/dia (Tabelas 4 e 5). Santos et al. (2009) avaliaram a inclusão de óleo de soja em 8% da matéria seca total em rações de vacas no período de transição e também não observaram variações no CMS no período pré-parto obtendo valores semelhantes aos observados neste estudo com média de 10,0 kg de MS/vaca/dia.

Tabela 3 – Efeitos das rações experimentais sobre o consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes

Item	Rações experimentais			Média	CV (%)	Valor de P ⁴				
	C ¹	OS ²	SC ³			Ração	Tempo	Int.	C X G ⁵	OS X SC ⁶
Consumo (kg/dia)										
				Pré-parto						
MS	11,19	9,82	9,70	10,22	11,27	0,176	<0,001	0,817	0,065	0,919
MO	9,16	7,83	7,73	8,25	23,97	0,293	<0,001	0,879	0,123	0,922
PB	1,19	0,97	1,01	1,06	26,26	0,195	<0,001	0,818	0,078	0,717
FDN	3,73	3,29	3,03	3,36	28,81	0,249	<0,001	0,983	0,124	0,530
CNF	4,34	3,35	3,51	3,74	23,17	0,121	<0,001	0,730	0,044	0,739
CT	7,55	6,22	6,11	6,64	24,45	0,170	<0,001	0,871	0,062	0,901
EE	0,40	0,54	0,59	0,54	25,65	0,008	0,001	0,978	0,002	0,473
NDT	7,15	6,44	6,36	6,66	23,00	0,584	<0,001	0,888	0,279	0,923
				Pós-parto						
MS	18,50	15,06	17,41	16,99	11,41	0,018	<0,001	0,156	0,032	0,049
MO	16,95	13,60	15,93	15,52	11,60	0,012	<0,001	0,015	0,025	0,038
PB	3,04	2,36	2,76	2,72	11,30	0,036	<0,001	0,113	0,005	0,040
FDN	5,66	4,35	5,18	5,07	15,55	0,008	<0,001	0,010	0,013	0,040
CNF	8,41	6,51	7,62	7,53	11,72	0,005	<0,001	0,054	0,007	0,049
CT	13,12	10,15	11,94	11,75	12,09	0,005	<0,001	0,015	0,007	0,040
EE	0,78	1,08	1,22	1,03	11,26	<0,001	<0,001	0,081	<0,001	0,042
NDT	13,96	11,89	13,79	13,23	11,14	0,050	<0,001	0,021	0,157	0,041
Digestibilidade aparente total (%)										
				Pré-parto						
CDMS	67,95	71,71	73,90	71,19	4,44	0,024	0,041	0,052	0,011	0,296
CDMO	69,47	73,24	73,15	71,95	7,38	0,224	0,164	0,551	0,086	0,969
CDPB	65,95	70,85	72,86	69,89	7,02	0,042	0,025	0,990	0,016	0,456
CDFDN	55,27	60,43	62,12	59,27	10,51	0,278	0,339	0,980	0,127	0,700
CDCNF	86,63	87,85	86,34	86,94	2,90	0,788	0,676	0,068	0,815	0,520
CDCT	69,66	72,30	72,48	71,48	4,88	0,426	0,261	0,454	0,196	0,940
CDEE	76,57	88,81	85,08	83,49	6,75	0,011	0,260	0,589	0,004	0,340
NDT _{OBS}	62,48	72,22	72,19	68,96	5,15	0,001	0,083	0,363	0,001	0,990
				Pós-parto						
CDMS	74,52	75,39	73,76	74,56	6,66	0,612	0,107	0,826	0,966	0,327
CDMO	74,94	75,93	74,29	75,05	6,52	0,541	0,202	0,718	0,882	0,272
CDPB	73,21	73,15	72,59	72,99	8,75	0,939	0,149	0,670	0,843	0,771
CDFDN	51,90	49,82	54,82	52,18	20,41	0,418	0,291	0,444	0,897	0,193
CDCNF	93,10	91,85	90,56	91,83	5,48	0,327	0,036	0,391	0,199	0,445
CDCT	75,43	75,83	73,82	75,03	6,27	0,413	0,014	0,599	0,667	0,211
CDEE	76,41	81,84	76,89	78,38	10,50	0,229	0,037	0,645	0,326	0,157
NDT _{OBS}	63,78	69,77	69,92	67,82	9,22	0,008	0,614	0,797	0,002	0,941

¹ controle; ² óleo de soja; ³ sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®). ⁴ valor da probabilidade da análise multivariada considerando os efeitos fixos de rações, tempo e interação das duas variáveis. ⁵ contrastes ortogonais C1 (dieta controle vs óleo de soja e sais de cálcio), e C2 (dieta óleo de soja vs sais de cálcio). ⁷ Mcal/dia.

Tabela 4 – Médias para o consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CFN), carboidratos totais (CT), extrato etéreo (EE), nutrientes digestíveis totais (NDT) e energia líquida (EL), segundo a semana em relação ao parto, no período pré-parto, em função das rações experimentais

Itens	Rações ¹	Semanas pré-parto ²				Médias
		S-3	S-2	S-1	D0	
MS (kg/d)	C	11,97	11,55	9,96	7,49	10,2
	OS	10,74	10,39	8,14	4,79	8,5
	SC	9,98	9,78	8,41	6,36	8,6
MO (kg/d)	C	10,16	10,66	9,05	6,78	9,16
	OS	9,21	9,12	7,80	5,22	7,84
	SC	9,10	8,82	7,64	5,59	7,79
PB (kg/d)	C	1,28	1,34	1,12	1,04	1,19
	OS	1,12	1,11	0,94	0,73	0,97
	SC	1,15	1,12	0,97	0,85	1,02
FDN (kg/d)	C	4,36	4,52	3,79	2,26	3,73
	OS	4,00	3,97	3,32	1,90	3,30
	SC	3,76	3,66	3,11	1,73	3,02
CNF (kg/d)	C	4,71	4,97	4,25	3,47	4,35
	OS	3,94	3,91	3,36	2,21	3,35
	SC	4,14	3,96	3,44	2,63	3,50
CT (kg/d)	C	8,44	8,86	7,53	5,41	7,56
	OS	7,40	7,34	6,26	3,91	7,89
	SC	7,33	7,08	6,10	4,15	7,92
EE (kg/d)	C	0,45	0,46	0,40	0,33	0,41
	OS	0,69	0,68	0,61	0,59	0,64
	SC	0,62	0,63	0,56	0,59	0,60
NDT (kg/d)	C	7,76	8,17	7,00	5,67	7,15
	OS	7,36	7,32	6,38	4,73	6,45
	SC	7,26	7,10	6,21	5,05	6,34
EL (Mcal/d)	C	19,89	20,92	17,97	15,17	18,49
	OS	21,18	21,08	18,60	15,30	19,04
	SC	20,51	20,28	17,89	16,11	18,54

¹C= controle; OS = óleo de soja; GS = sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®).²quatro semanas antes do parto;

Tabela 5 – Médias para o consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF), carboidratos totais (CT), extrato etéreo (EE), nutrientes digestíveis totais (NDT) e energia líquida (ELL), segundo a semana em relação ao parto, no período pós-parto, em função das rações experimentais

Itens	Rações ¹	Semanas pós-parto ²												Médias
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	
MS (kg/d)	C	11,97	14,63	16,80	16,75	18,22	18,66	19,21	20,20	20,88	21,16	21,18	21,41	18,4
	OS	9,23	12,36	13,61	13,76	14,97	15,00	16,36	16,15	16,26	16,51	17,05	17,49	14,9
	SC	10,95	14,32	15,26	16,04	16,68	16,49	18,04	18,94	19,63	20,47	20,66	21,10	17,4
MO (kg/d)	C	11,14	13,69	15,39	15,64	16,81	17,17	17,66	18,54	19,13	19,37	19,37	19,61	16,96
	OS	9,50	10,49	12,39	12,65	13,43	13,69	14,70	14,69	14,94	15,21	15,53	16,24	13,62
	SC	9,94	13,21	13,87	14,65	15,21	15,08	16,56	17,43	18,04	18,87	19,11	19,20	15,93
PB (kg/d)	C	1,78	2,33	2,47	2,47	2,76	2,80	2,91	2,98	3,05	3,03	3,09	3,13	2,73
	OS	1,89	2,21	2,54	2,66	2,67	2,72	2,80	2,84	2,89	2,90	2,87	2,89	2,66
	SC	1,71	2,00	2,23	2,29	2,43	2,51	2,81	2,95	3,09	3,31	3,39	3,39	2,68
FDN (kg/d)	C	3,55	4,36	4,85	5,02	5,75	5,80	5,92	6,39	6,53	6,59	6,52	6,66	5,66
	OS	3,03	3,30	4,00	3,98	4,28	4,37	4,70	4,66	4,78	4,97	4,92	5,35	4,36
	SC	3,11	4,29	4,56	4,79	4,94	4,79	5,32	5,60	5,87	6,21	6,33	6,47	5,19
CNF (kg/d)	C	5,67	6,96	7,86	7,92	8,25	8,47	8,73	9,07	9,38	9,50	9,57	9,64	8,42
	OS	4,57	5,06	5,93	6,14	6,50	6,60	7,04	7,02	7,10	7,18	7,46	7,71	6,54
	SC	4,73	6,28	6,57	6,96	7,18	7,21	7,92	8,38	8,66	9,10	9,24	9,23	7,62
CT (kg/d)	C	8,63	10,58	11,86	12,07	13,05	13,29	13,65	14,39	14,81	14,99	14,99	15,17	16,27
	OS	7,14	7,83	9,26	9,42	10,02	10,20	10,95	10,92	11,13	11,38	11,55	12,20	12,90
	SC	7,34	9,87	10,40	10,97	11,34	11,22	12,39	13,07	13,54	14,21	14,44	14,56	14,66
EE (kg/d)	C	0,53	0,64	0,72	0,74	0,77	0,80	0,83	0,85	0,88	0,90	0,90	0,91	0,79
	OS	0,77	0,84	0,97	1,01	1,07	1,10	1,18	1,20	1,21	1,20	1,25	1,27	1,09
	SC	0,80	1,02	1,09	1,13	1,19	1,19	1,28	1,34	1,37	1,43	1,44	1,42	1,23
NDT (kg/d)	C	9,32	11,38	12,83	13,03	13,75	14,15	14,59	15,18	15,63	15,84	15,87	15,96	15,82
	OS	8,37	9,24	10,81	11,11	11,75	11,97	12,81	12,85	13,05	13,20	13,60	14,06	13,48
	SC	8,70	11,48	12,04	12,69	13,24	13,15	14,33	15,10	15,57	16,27	16,48	16,47	16,20
EL (Mcal/d)	C	25,18	30,66	34,66	35,25	36,86	38,11	39,35	40,67	41,94	42,54	42,68	42,87	37,56
	OS	25,09	27,67	32,21	33,35	35,14	35,94	38,44	38,77	39,24	39,45	40,89	41,87	35,74
	SC	26,22	34,13	35,85	37,73	39,48	39,31	42,61	44,83	46,17	48,23	48,74	48,52	40,99

¹C= controle; OS = óleo de soja; GS = sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®). ²doze semanas após parto;

Duske et al. (2009) avaliaram a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos em 80 vacas da raça Holandesa com média de produção de 35,0 kg/vaca/dia utilizando duas dietas, controle com 2,7 % de EE e com adição de gordura 5,5 % de EE com base na matéria seca total. Estes autores não observaram variações no CMS no período close-up obtendo médias de CMS semelhantes aos observados neste estudo 11,10 kg/MS/vaca/dia.

Houve efeito ($P < 0,05$) das rações experimentais sobre o CMS em kg/dia no período pós-parto. Este mesmo comportamento foi observado para o consumo de matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), carboidratos não fibrosos (CCNF), carboidratos totais (CCT), extrato etéreo (CEE), nutrientes digestíveis totais (CNDT). A ração controle apresentou um maior consumo para todos os nutrientes analisados exceto para o consumo de extrato etéreo onde as rações suplementadas com as fontes de lipídeos apresentaram um maior consumo em relação ao controle.

Foi observado efeito ($P < 0,05$) das semanas pós-parto para todos os nutrientes analisados. O efeito de tempo observado se justifica pelas mudanças metabólicas e homeorréticas, que as vacas em início de lactação estão sujeitas.

Não houve interação entre as semanas de lactação e as rações experimentais em relação ao consumo de matéria seca (CMS), proteína bruta (CPB), fibra em detergente neutro (CFDN), carboidrato não fibrosos (CCNF), extrato etéreo (CEE). Houve interação ($P > 0,05$) entre as semanas de lactação e as rações experimentais em relação ao consumo de matéria orgânica (CMO), carboidratos totais (CCT), nutrientes digestíveis totais (CNDT). Este comportamento pode ser justificado pelo maior consumo de matéria seca apresentado pela ração controle e também pela substituição da fonte energética das rações onde houve uma redução dos carboidratos e um aumento dos lipídeos pela própria composição das dietas.

Segundo Allen (2000), os mecanismos pelo qual a suplementação de gordura na ração afeta o consumo de nutrientes, ainda não estão devidamente elucidados, mas há fortes evidências de que o efeito da gordura sobre a fermentação ruminal, motilidade intestinal, aceitabilidade da dieta com suplemento, liberação de hormônios intestinais, mecanismos regulatórios que controlam a ingestão de alimentos e a capacidade limitada dos ruminantes de oxidar os ácidos graxos sejam as principais razões da inibição de consumo e possíveis interações com fatores ambientais e temporais.

Avaliando o contraste ortogonal entre a ração controle e as fontes de gordura foi observado uma superioridade no consumo de todos os nutrientes analisados para a ração controle em relação as fontes de gordura, excetuando o consumo de nutrientes digestíveis totais, onde não foi observado efeito algum e o consumo de extrato etéreo, onde se observou

uma superioridade para as fontes de gorduras. Este comportamento apresentado pelo consumo de extrato etéreo se justifica pela maior concentração de lipídeos nas rações de óleo de soja e sais de cálcio.

Em relação ao contraste ortogonal onde se comparou as rações com as fontes de gordura óleo de soja e sais de cálcio foi observado um maior consumo para a ração com os sais de cálcio para todos os nutrientes avaliados. Esta superioridade para a ração com sais de cálcio possivelmente pode ser explicada pelo fato dos sais de cálcio serem inertes no rúmen, deste modo não apresentando efeitos deletérios na fermentação ruminal, como possivelmente pode ocorrer em rações com óleo de soja compostas em sua totalidade com ácidos graxos livres no rúmen.

As rações experimentais não influenciaram ($P>0,05$) os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria orgânica (CDMO), fibra em detergente neutro (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF), carboidratos totais (CDCT), e os nutrientes digestíveis totais observados, no pré-parto (Tabela 3). No entanto, se observou efeito das dietas sobre os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB) e do extrato etéreo (CDEE). Somente se observou efeito das semanas pré-parto para os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca e da proteína bruta. Não houve interação entre as semanas pré-parto e as rações experimentais para todos os nutrientes avaliados.

O maior coeficiente de digestibilidade da matéria seca se justifica, devido ao fato de não haver efeito sobre o coeficiente de digestibilidade dos carboidratos totais e uma superioridade no coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo. A maior digestibilidade do extrato etéreo está ligada ao fato de uma maior concentração de lipídeos nas rações com óleo de soja e sais de cálcio.

Quando se avaliou os contrastes ortogonais não foi observado efeito algum em relação às duas fontes de gordura. Porém houve efeito ($P<0,05$) do coeficiente de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo para a ração com sais de cálcio. Este fato pode ser explicado devido as características ruminais dos sais de cálcio e do óleo de soja. Os resultados desse estudo contrariam a hipótese de que fontes de gordura altamente insaturadas como óleos vegetais e sais de cálcio de ácidos graxos reduzem a digestibilidade de nutrientes. De acordo com Jenkins (1993), os lipídios da dieta diminuem a digestibilidade da fibra por formar um filme que recobre a partícula de alimento, impedindo a adesão microbiana ou por efeito tóxico direto sobre as bactérias celulolíticas.

No pós-parto não foi observado efeito das rações experimentais sobre os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente

neutra, carboidratos não fibrosos, carboidratos totais, com exceção, dos nutrientes digestíveis totais observados, onde foi observado uma superioridade para as rações suplementadas com lipídeos (Tabela 3).

De acordo com Allen (2000), a suplementação de gordura nas rações de vacas em lactação tem proporcionado redução da digestibilidade da matéria seca e conseqüente diminuição do CMS, fato este não observado no presente estudo. No entanto, é preciso considerar que quando se avalia o CMS de vacas suplementadas com fontes de gordura, uma série de parâmetros estão envolvidos, dentre os quais a digestibilidade da fração fibrosa, o tipo de volumoso utilizado, a fonte e nível de gordura utilizado, e o estágio de lactação no qual se iniciou a suplementação de gordura (ONETTI & GRUMMER, 2003; STAPLES, 2001).

As semanas pós-parto não influenciaram nos coeficiente de digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes excetuando-se os coeficientes de digestibilidades dos carboidratos não fibrosos e dos carboidratos totais. Não houve interação entre as semanas pós-parto e as rações experimentais para todas as variáveis analisadas. A superioridade nos coeficientes de digestibilidade dos carboidratos pode ser atribuída ao maior consumo de matéria seca, juntamente com a diminuição nos teores de carboidratos nas rações com suplementos de lipídeos.

Alguns autores têm observado redução na digestibilidade da fibra quando fontes lipídicas são adicionadas às rações, e a magnitude de redução está relacionada não só à quantidade, mas principalmente ao tipo de ácido graxo presente no suplemento, sendo que lipídios ricos em ácidos graxos insaturados tendem a provocar maior depressão na digestibilidade (Doreau & Chilliard, 1997; Leite, 2006). Costa (2007) avaliaram a inclusão de óleo soja (2,6 % ms), sais de cálcio de ácidos graxos (2,7 % ms) e grão de soja tratado com formaldeído (11,7% ms) nas rações de vacas leiteiras, e observaram que o óleo de soja apresentou os menores valores de digestibilidade aparente para matéria seca, matéria orgânica, carboidratos totais e fibra em detergente neutro, tanto em relação a dieta sem nenhuma fonte adicional de lipídios, como para as demais fontes lipídicas.

Entretanto, Bateman e Jenkins (1998) avaliaram a inclusão de até 8% de óleo de soja nas rações de vacas secas e não constataram efeitos da suplementação sobre a digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e fibra em detergente neutro, concluindo que grandes quantidades de gordura podem ser suplementadas sem efeito deletério sobre a digestibilidade, mesmo sendo lipídios não protegidos. Havartine & Allen (2006) avaliaram o efeito da suplementação de ácidos graxos saturados, insaturados e a mistura de

ambos nas rações de vacas leiteiras sobre a digestibilidade aparente total dos nutrientes. As rações continham cerca de 8,3 % de ácidos graxos na matéria seca. Estes autores não observaram efeito das fontes de ácidos graxos sobre a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro, e amido.

Avaliando o contraste ortogonal, da ração controle versus as fontes de gordura, não se observou efeito sobre os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos, carboidratos totais e extrato etéreo, no entanto foi observado uma superioridade para os nutrientes digestíveis totais observados em relação as rações suplementadas com fonte de gordura. Este resultado pode ser explicado devido ao maior incremento energético das rações com fonte de lipídeos. Em relação ao contraste ortogonal óleo de soja versus sais de cálcio, não foi observado nenhum efeito para os coeficientes de digestibilidade avaliados.

4.2 Fermentação Ruminal

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre os valores de pH ruminal nos dois tempos de coleta avaliados no período pós-parto e no tempo zero no período pré-parto (Tabela 6). No entanto, quando se avalia os contrastes entre as rações com fontes adicionais de gordura e a ração controle, os animais submetidos a ração com fontes de gordura apresentaram maiores valores de pH três horas após alimentação no período pré-parto. Esse resultado pode ser atribuído principalmente ao aumento do valor de pH ruminal para os animais submetidos a ração com óleo de soja.

Isso ocorre porque devido ao tipo de gordura suplementada neste estudo. Quando são fornecidas fontes de gordura com ácidos graxos livres no rúmen como óleos vegetais altamente insaturados o processo de biohidrogenação ruminal é otimizado promovendo dessa forma maior eficiência de aproveitamento de hidrogênio livre no rúmen para hidrogenação de ácidos graxos insaturados promovendo dessa forma maiores valores de pH ruminal.

Não houve efeito das rações experimentais sobre as concentrações de $N-NH_3$ no período pré-parto. Entretanto os animais submetidos a ração contendo óleo de soja apresentaram tendência para a redução da concentração de $N-NH_3$ no período pré-parto e de forma efetiva uma redução ($P<0,05$) no período pós-parto. Houve efeito de tempo e interação tempo

tratamento ($P < 0,05$) quando se observa as concentrações $N-NH_3$ três horas após alimentação no período pós-parto para os animais submetidos a ração contendo óleo de soja.

Esses resultados podem ser atribuídos a maior eficiência do aproveitamento de nitrogênio ruminal não promovendo os potenciais efeitos inibidores sobre a fermentação ruminal relacionado à produção de amônia quando são utilizadas fontes de gordura em rações de ruminantes. Neste estudo de forma efetiva essa redução da concentração de $N-NH_3$ pode ser atribuída a diminuição do consumo de proteína bruta no período pós-parto para os animais submetidos a ração óleo de soja sendo que de forma coerente no período pré-parto os animais submetidos a esta mesma ração não apresentaram redução do consumo de proteína bruta o que não alterou as concentrações de $N-NH_3$ no período pré-parto (Tabela 6).

Na literatura têm sido relatados potenciais efeitos inibidores sobre a fermentação ruminal relacionado à produção de amônia quando são utilizadas fontes de gordura em rações de ruminantes. A hipótese mais relatada correspondente a inibição no acúmulo de amônia pelas fontes de gordura, pode estar relacionada ao efeito depressor dos lipídios insaturados sobre a população de bactérias gram positivas fermentadoras obrigatórias de aminoácidos, para suprir suas necessidades energéticas e protéicas (CHEN; RUSSELL, 1989).

No entanto, Vargas et al. (2002) avaliaram a adição de grão e óleo de soja nas rações de vacas no início de lactação e não verificaram diferenças na concentração de nitrogênio amoniacal para as fontes de gordura avaliadas. Christensen et al. (1994) também não observaram efeito da suplementação de óleo de milho e sebo bovino sobre o pH ruminal em vacas leiteiras no terço medio de lactação.

Tabela 6 – Médias e coeficientes de variação (CV) para pH, concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), proporção, concentração molar e total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, nos tempos zero e três horas após a alimentação, segundo as rações experimentais

Variáveis	Tempo ²	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ³				
		C	OS	SC			Ração	Tempo	Int.	CxG	OSxSC
Pré-parto											
pH	0	7,12	7,13	7,07	7,11	3,71	0,691	0,490	0,886	0,721	0,438
	3	6,76	6,97	6,94	6,89	3,15	0,075	0,948	0,901	0,025	0,748
N-NH ₃ (mg/dl)	0	8,25	8,26	9,11	8,55	27,34	0,726	0,563	0,150	0,666	0,507
	3	13,04	12,24	18,21	14,41	56,50	0,114	0,162	0,594	0,426	0,05
Acético (%)	0	71,91	71,00	71,52	71,49	2,78	0,652	0,588	0,357	0,417	0,662
	3	70,62	67,99	70,00	69,61	2,09	0,069	0,973	0,009	0,083	0,111
Propiônico (%)	0	16,69	19,06	18,00	17,90	7,59	0,095	0,915	0,332	0,044	0,410
	3	17,79	21,60	19,12	19,40	7,43	0,005	0,648	0,020	0,011	0,025
Butírico (%)	0	11,00	9,94	10,48	10,48	8,13	0,238	0,792	0,500	0,170	0,312
	3	11,59	10,41	10,87	10,99	7,38	0,415	0,524	0,639	0,309	0,394
Acético (mM)	0	45,43	40,51	43,77	43,28	19,97	0,317	0,144	0,908	0,238	0,329
	3	59,05	48,76	53,45	54,05	12,79	0,247	0,176	0,316	0,145	0,407
Propiônico (mM)	0	11,36	11,07	11,23	11,22	26,14	0,994	0,408	0,619	0,936	0,941
	3	15,24	15,44	14,93	15,20	17,53	0,885	0,163	0,731	0,850	0,651
Butírico (mM)	0	6,96	5,80	6,49	6,43	24,92	0,370	0,109	0,591	0,261	0,386
	3	9,77	7,57	8,47	8,67	14,25	0,265	0,146	0,497	0,160	0,404
Relação A/P ⁴	0	4,39	3,77	4,12	4,10	10,37	0,084	0,950	0,208	0,057	0,225
	3	4,06	3,21	3,76	3,70	10,86	0,011	0,722	0,028	0,016	0,047
AGCC (mM)	0	63,75	57,38	61,49	60,93	20,45	0,440	0,161	0,812	0,312	0,423
	3	84,06	71,77	76,85	77,92	13,21	0,428	0,149	0,584	0,243	0,566
Pós-parto											
pH	0	7,08	7,13	7,11	7,11	3,72	0,754	0,777	0,368	0,488	0,784
	3	6,75	6,87	6,83	6,82	4,74	0,260	0,255	0,825	0,118	0,653
N-NH ₃ (mg/dl)	0	16,61	15,06	16,60	16,09	32,70	0,479	0,935	0,104	0,444	0,347
	3	21,82	17,97	22,42	20,74	34,92	0,257	0,002	0,043	0,455	0,142
Acético (%)	0	66,18	62,47	66,02	64,82	5,36	0,010	0,181	0,830	0,118	0,008
	3	64,49	59,99	64,32	62,88	6,58	0,014	0,690	0,858	0,111	0,012
Propiônico (%)	0	21,81	27,65	21,81	23,87	16,56	<0,001	0,182	0,963	0,048	<0,001
	3	22,91	29,18	23,12	25,15	18,01	0,005	0,600	0,896	0,066	0,005
Butírico (%)	0	12,29	9,88	12,17	11,40	15,66	0,002	0,834	0,882	0,041	0,003
	3	12,59	10,84	12,55	11,97	11,95	0,001	0,048	0,624	0,036	0,002
Acético (mM)	0	47,07	41,15	46,62	44,83	19,73	0,074	0,887	0,309	0,202	0,058
	3	64,69	51,43	55,68	57,21	19,64	0,007	0,444	0,835	0,003	0,299
Propiônico (mM)	0	14,83	18,47	15,52	16,34	30,79	0,063	0,198	0,721	0,144	0,062
	3	23,28	25,77	20,27	23,18	28,98	0,200	0,982	0,924	0,926	0,076
Butírico (mM)	0	8,97	6,61	8,80	8,08	32,81	0,015	0,995	0,547	0,104	0,014
	3	12,71	9,76	11,00	11,04	24,20	0,011	0,111	0,668	0,007	0,161
Relação A/P ⁶	0	3,16	2,38	3,17	2,89	19,91	0,004	0,169	0,932	0,103	0,003
	3	2,97	2,21	2,89	2,68	22,94	0,020	0,981	0,835	0,091	0,022
AGCC (mM)	0	70,87	66,23	70,93	69,25	21,86	0,508	0,957	0,377	0,577	0,316
	3	100,68	86,66	86,96	91,43	19,80	0,091	0,513	0,851	0,030	0,971

¹ Controle; ² óleo de soja; ³Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®). ⁴ Valor da probabilidade da análise multivariada considerando os efeitos fixos de rações, tempo e interação das duas variáveis. ⁵ contrastastes ortogonais C1 (dieta controle vs óleo de soja e sais de cálcio), e C2 (dieta óleo de soja vs sais de cálcio). ⁶ Relação acético:propiónico

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre as porcentagens e concentrações molares de ácido butírico e porcentagens dos ácidos acético e propiônico nos dois tempos de coleta no período pré-parto. A ração com óleo de soja proporcionou uma tendência ($P=0,083$) para a redução da porcentagem de ácido acético três horas após a alimentação nos períodos pré e pós-parto.

De forma semelhante, as porcentagens e concentrações molares de ácido propiônico foram maiores para os animais que receberam a ração contendo óleo de soja tanto no período pré como no período pós-parto. Com esses resultados, a relação acetato/propionato foi reduzida ($P<0,05$) tanto no período pré como no período pós-parto para os animais submetidos a essa ração.

A redução do consumo seguido de alterações na digestibilidade das rações contendo óleo de soja pode estar relacionada à variação na concentração dos ácidos graxos de cadeia curta.

Em um estudo de revisão Onetti e Grummer (2004) compilaram dados de 41 experimentos que avaliaram inclusão de sais cálcio de ácidos graxos, sebo e gordura branca hidrogenada e seus efeitos sobre os parâmetros de fermentação ruminal em diferentes fases de lactação. Estes autores verificaram que houve redução da relação acetato:propionato para os animais que estavam no terço médio de lactação em relação ao início de lactação. Este resultado, segundo estes autores, pode ser justificado em parte pelo aumento da taxa de passagem devido ao aumento do CMS em vacas em início de lactação, o que influencia a degradação da fibra, resultando em menor produção de ácidos graxos voláteis, especialmente o acetato. No entanto neste estudo não houve redução da digestibilidade da fibra em detergente neutro nos períodos pré e pós parto.

Nas tabelas 7 e 8 são apresentados os valores de pH, e as concentrações de $N-NH_3$, e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em 21, e 10 dias antes do parto e em 14, 46 e 76 dias pós-parto.

Tabela 7 – Médias de valores de pH, concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), proporção, concentração molar e total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, nos tempos zero e três horas após a alimentação, segundo as rações experimentais e semanas em relação ao parto

Variáveis	Ração	Tempo ²	Semanas em relação ao parto				
			-21	-10	14	46	76
pH	C	0	7,10	7,15	7,14	7,03	7,08
		3	6,78	6,75	6,81	6,70	6,75
	OS	0	7,09	7,13	7,06	7,16	7,19
		3	6,98	6,95	7,04	6,76	6,83
	SC	0	7,07	7,09	7,22	7,11	7,01
		3	6,93	6,97	6,89	6,84	6,79
N-NH ₃ (mg/dl)	C	0	7,98	8,51	14,42	16,53	19,84
		3	13,66	12,34	16,41	22,35	28,94
	OS	0	7,42	9,20	15,26	15,93	13,57
		3	15,20	8,94	16,88	18,84	17,99
	SC	0	9,72	8,50	18,11	16,78	14,53
		3	19,05	17,26	16,77	30,23	22,64

¹ Controle; ² óleo de soja; ³ Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®).

O aumento proporcional das concentrações de N-NH₃ e AGCC no período pré-parto são nitidamente observadas nas tabelas acima quando comparadas as concentrações no período pós-parto (Tabelas 7 e 8).

A variação das concentrações dos parâmetros de fermentação ruminal são respostas inerentes as alterações do período de transição especialmente devido ao aumento de consumo de matéria seca que ocorre do período pré-parto para o período pós-parto. Com isso todo o metabolismo basal ruminal é alterado promovendo dessa forma variações nas concentrações dos produtos finais.

Tabela 8 – Concentração molar e total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, nos tempos zero e três horas após a alimentação, segundo as rações experimentais e semanas em relação ao parto

Variáveis	Ração	Tempo ²	Semanas em relação ao parto				
			-21	-10	14	46	76
	C	0	71,89	71,93	66,04	65,93	66,61
		3	69,44	71,68	64,76	63,92	64,84
	OS	0	70,76	71,20	60,45	62,15	64,62
		3	67,86	68,09	59,41	60,57	59,82
	SC	0	72,50	70,65	65,37	65,88	66,99
		3	70,84	69,27	63,55	63,92	65,59
Propiônico (%)	C	0	19,96	16,46	22,75	22,03	20,51
		3	18,59	17,07	23,11	23,56	21,96
	OS	0	19,03	19,08	29,57	27,99	25,58
		3	21,36	21,78	30,53	28,49	28,74
	SC	0	17,24	18,69	22,79	21,71	20,69
		3	18,42	19,75	24,42	21,89	22,91
Butírico (%)	C	0	11,15	10,87	12,23	11,83	12,88
		3	11,97	11,25	12,12	12,53	13,21
	OS	0	10,22	9,72	9,98	9,86	9,81
		3	10,78	10,13	10,06	10,91	11,46
	SC	0	10,27	10,67	11,84	12,41	12,32
		3	10,74	10,98	12,03	13,22	12,47
Acético (mM)	C	0	46,96	44,05	46,38	45,96	49,08
		3	58,92	59,16	62,97	66,24	64,88
	OS	0	43,23	38,33	41,39	38,57	43,51
		3	50,54	47,37	48,93	50,35	54,85
	SC	0	45,16	42,51	46,30	49,61	43,66
		3	54,77	52,27	53,02	59,31	55,05
Propiônico (mM)	C	0	11,84	10,93	14,74	15,25	14,46
		3	16,31	14,29	22,94	24,78	21,98
	OS	0	11,89	10,42	20,39	17,86	17,35
		3	15,87	15,11	25,56	24,90	26,93
	SC	0	10,94	11,50	16,32	16,56	13,34
		3	14,88	14,97	19,95	20,64	20,27
Butírico (mM)	C	0	7,51	6,46	9,03	8,34	9,62
		3	10,12	9,46	11,89	12,97	13,34
	OS	0	6,42	5,29	6,92	6,21	6,74
		3	8,12	7,14	8,45	9,34	10,50
	SC	0	6,50	6,48	8,37	9,80	8,22
		3	8,42	8,52	10,14	12,41	10,56
Relação A/P ⁴	C	0	4,29	4,47	3,10	3,03	3,36
		3	3,83	4,27	3,06	2,82	3,03
	OS	0	3,76	3,77	2,12	2,30	2,70
		3	3,22	3,19	2,09	2,33	2,17
	SC	0	4,34	3,92	3,09	3,13	3,30
		3	3,97	3,58	2,81	3,01	2,86
AGCC (mM)	C	0	66,30	61,45	70,14	69,55	73,17
		3	85,34	82,91	97,80	103,99	100,20
	OS	0	61,53	54,05	68,71	62,64	67,59
		3	74,52	69,62	82,95	84,58	92,28
	SC	0	62,60	60,49	70,99	75,96	65,21
		3	78,07	75,76	83,11	92,37	85,87

¹ Controle; ² óleo de soja; ³ Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®).

4.3 Síntese de proteína microbiana

Não houve diferença ($P>0,05$) entre as rações experimentais para a excreção diária total de urina, excreções diárias de alantoína, e ácido úrico, de alantoína no leite, de derivados de purinas totais, da porcentagem de alantoína, das purinas absorvidas, do nitrogênio microbiano, e da eficiência de síntese de proteína microbiana para as rações experimentais tanto nos períodos pré e pós-parto (Tabela 9).

Tabela 9 – Médias e coeficiente de variação (CV) para a excreção diária total de urina (VUR), das excreções diárias de alantoína (ALA), e ácido úrico (ACU), de alantoína no leite (ALAL), de derivados de purinas totais (DP), da porcentagem de alantoína nos dp (ALA:DP), das purinas absorvidas (Pabs), do nitrogênio microbiano (Nmic), e da eficiência microbiana (Efic) obtidos para as rações experimentais no pré e pós-parto

Parâmetros	Rações experimentais			Média	CV (%)	Valor de P ⁴				
	C ¹	OS ²	SC ³			Ração	Tempo	Int.	C X G ⁵	OS X SC ⁶
Pré-parto										
VUR (L/dia)	9,81	9,17	9,21	9,70	46,31	0,941	0,951	0,844	0,731	0,967
ALA (mmol/dia)	114,14	112,79	122,56	117,44	28,66	0,828	0,246	0,216	0,625	0,721
ACU (mmol/dia)	15,86	14,28	18,55	16,22	43,86	0,579	0,593	0,897	0,754	0,321
ALA: DP (%)	91,14	93,54	88,88	91,23	5,29	0,117	0,215	0,676	0,883	0,042
DP (mmol/dia)	124,12	120,23	126,02	126,27	30,66	0,952	0,217	0,422	0,798	0,863
Pabs (mmol/dia)	130,08	128,50	129,14	132,19	36,98	0,856	0,061	0,635	0,739	0,669
Nmic (g/dia)	69,93	73,29	71,57	73,84	42,12	0,859	0,111	0,349	0,623	0,808
Efic. (gPB/kg NDT)	66,43	67,95	93,58	76,67	51,46	0,168	0,261	0,234	0,089	0,369
Pós-parto										
VUR (L/dia)	16,44	15,29	16,59	16,34	39,99	0,621	0,025	0,495	0,552	0,432
ALA (mmol/dia)	239,98	264,44	227,12	238,24	50,84	0,677	<0,001	0,293	0,673	0,433
ACU (mmol/dia)	19,67	20,26	22,17	20,30	35,90	0,719	0,027	0,835	0,669	0,494
ALAL (mmol/dia)	221,38	219,39	209,25	217,43	43,83	0,878	0,003	0,342	0,760	0,674
ALA: DP (%)	91,08	91,51	90,29	91,05	2,52	0,500	0,447	0,440	0,827	0,251
DP (mmol/dia)	266,26	249,02	253,98	253,80	41,37	0,979	0,002	0,539	0,898	0,871
Pabs (mmol/dia)	283,00	263,41	268,79	268,53	46,61	0,980	0,002	0,534	0,905	0,870
Nmic (g/dia)	182,16	166,89	169,17	177,46	46,49	0,885	0,098	0,910	0,676	0,820
Efic. (gPB/kg NDT)	92,85	99,43	74,53	85,88	29,69	0,153	<0,001	0,692	0,536	0,075

¹ controle; ² óleo de soja; ³ sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®). ⁴ valor da probabilidade da análise multivariada considerando os efeitos fixos de rações, tempo e interação das duas variáveis; ⁵ controle versus fontes de gordura (C X G); ⁶ óleo de soja versus sais de cálcio de ácidos graxos;

Entretanto a excreção diária total de urina, excreções diárias de alantoína, e ácido úrico, de alantoína no leite, de derivados de purinas totais, da porcentagem de alantoína, das purinas absorvidas, do nitrogênio microbiano, e eficiência de síntese de proteína microbiana foram influenciadas pelo tempo no período pós-parto.

Klusmeyer et al. (1991) avaliaram a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos em rações de vacas leiteiras sobre a excreção dos derivados de purina e do nitrogênio

microbiano total. Estes autores também não observaram efeito da fonte de gordura sobre a produção de nitrogênio microbiano total. Gozho et al. (2008) avaliaram a excreção dos derivados de purina e nitrogênio microbiano total com a suplementação de sementes de canola e de linhaça como fontes de gordura em dietas com média de 5,2% de extrato etéreo em vacas Holandesas, e também não observaram efeito das fontes de gordura sobre a excreção dos derivados de purina e nitrogênio microbiano total.

A suplementação de gordura reduz a quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis diminuindo a quantidade de substrato disponível para a síntese de proteína microbiana (SPM). Entretanto, os estudos encontrados na literatura têm demonstrado diferentes resultados com a utilização de diferentes suplementos de gordura em rações de vacas leiteiras. Além disso é preciso enfatizar que não há estudos sobre a síntese de proteína microbiana para vacas leiteiras no período de transição. Dessa forma, os dados apresentados neste trabalho permite uma análise conjunta com os parâmetros de digestibilidade, consumo e fermentação ruminal na tentativa de explicar a eficiência microbiana ruminal.

Em 12 estudos que avaliaram a suplementação de gordura e seus efeitos sobre a SPM as fontes de gordura não reduziram a eficiência microbiana e em alguns casos promoveu o seu aumento, sendo 5 destes estudos utilizando gordura insaturada (Doreau et al. 1993; Doreau et al. 1991; Ferlay et al. 1992, Klusmeyer et al. 1991b, Ohajuruka et al. 1991). No entanto tais estudos ainda não são suficientes para se concluir os efeitos das gorduras sobre a SPM, pois há evidências que em dietas com baixa quantidade de volumoso há diminuição do número de protozoários e conseqüentemente redução da renovação de proteína microbiana devido à alterações na defaunação o que leva a aumento a eficiência da SPM (JOUANY et al. 1988, USHIDA et al. 1990).

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais para as concentrações de creatinina na urina, uréia no soro, nitrogênio uréico no soro, e excreções diárias de uréia na urina, nitrogênio uréico na urina e nitrogênio uréico no leite no período pré-parto (Tabela 10).

Entretanto houve efeito de tempo ($P<0,05$) no período pós-parto para as concentrações de uréia no soro, nitrogênio uréico no soro, uréia no leite, nitrogênio uréico no leite, e excreções totais de uréia na urina, nitrogênio uréico na urina, nitrogênio uréico no leite. Esse efeito de semanas pós-parto pode ser atribuído ao aumento do consumo de matéria seca para os animais no período pós-parto o que promoveu dessa forma o aumento do consumo de proteína bruta e das respectivas concentrações de nitrogênio no soro, leite e urina e excreções diárias.

Tabela 10 - Médias e coeficientes de variação (CV) para as concentrações pré e pós-parto de creatinina, uréia no soro, nitrogênio uréico no soro (NUS), uréia na urina, nitrogênio uréico na urina (NUU), uréia no leite, nitrogênio uréico no leite (NUL), ácido úrico, e excreções totais de uréia na urina (ETUU), nitrogênio uréico na urina (ETNUU), e nitrogênio uréico no leite (ETNUL), acordo com as rações experimentais.

Parâmetros	Rações experimentais			Média	CV (%)	Valor de P ⁴				
	C ¹	OS ²	SC ³			Ração	Tempo	Int.	C X G ⁵	OS X SC ⁶
	mg/dl									
Creatinina urina										
Pré-parto	2,86	3,33	2,96	2,99	34,01	0,741	0,717	0,569	0,610	0,566
Pós-parto	1,63	1,89	1,64	1,75	33,00	0,416	0,160	0,680	0,560	0,307
Uréia soro										
Pré-parto	31,27	27,37	28,37	29,10	39,16	0,584	0,175	0,621	0,319	0,805
Pós-parto	49,03	49,10	44,96	47,70	23,70	0,682	0,002	0,307	0,670	0,448
NUS										
Pré-parto	14,98	14,90	14,99	15,01	21,03	0,999	0,571	0,573	0,992	0,966
Pós-parto	22,91	22,45	21,01	22,13	23,58	0,739	<0,001	0,254	0,596	0,575
Uréia urina										
Pré-parto	122,08	113,38	116,27	118,16	15,89	0,707	0,592	0,228	0,444	0,748
Pós-parto	114,06	115,17	113,03	113,75	16,67	0,960	0,850	0,789	0,947	0,784
NUU										
Pré-parto	57,05	52,99	54,34	55,22	15,89	0,707	0,591	0,229	0,444	0,748
Pós-parto	53,30	53,81	52,81	53,15	16,67	0,960	0,852	0,786	0,944	0,784
Uréia leite										
Pós-parto	26,30	23,03	22,06	23,80	26,21	0,477	0,020	0,174	0,239	0,790
NUL										
Pós-parto	12,29	10,76	10,31	11,12	26,20	0,477	0,020	0,173	0,239	0,790
Ac. Úrico										
Pré-parto	20,05	17,27	22,72	20,08	43,79	0,093	0,973	0,409	0,884	0,031
Pós-parto	20,46	28,67	23,59	23,54	42,66	0,095	0,907	0,103	0,082	0,156
ETUU	g/dia									
Pré-parto	103,95	94,79	105,94	101,69	42,04	0,906	0,732	0,525	0,804	0,714
Pós-parto	199,40	148,60	193,78	175,90	49,98	0,336	0,013	0,054	0,374	0,238
ETNUU										
Pré-parto	48,57	44,29	49,50	47,51	42,04	0,906	0,732	0,525	0,804	0,714
Pós-parto	93,16	69,44	90,53	82,18	49,98	0,336	0,013	0,054	0,374	0,238
ETNUL										
Pós-parto	33,39	32,77	33,19	33,12	27,72	0,993	<0,001	0,175	0,932	0,939

¹ controle; ² óleo de soja; ³ sais de cálcio de ácidos graxos (megalac-e®). ⁴ valor da probabilidade da análise multivariada considerando os efeitos fixos de rações, tempo e interação das duas variáveis; ⁵ controle versus fontes de gordura (c x g); ⁶ óleo de soja versus sais de cálcio de ácidos graxos;

A ausência de efeito das rações experimentais sobre as excreções diárias de compostos nitrogenados especialmente o nitrogênio uréico no leite, deixa claro que as rações experimentais foram formuladas de forma adequada na tentativa de atender a demanda de nitrogênio para os animais durante as duas fases experimentais tanto no período seco como no período pós-parto. Ainda é possível concluir que com esses resultados o metabolismo de nitrogênio de forma geral não foi alterado pelas rações experimentais de forma a promover maior eficiência de utilização de nitrogênio.

Os valores de creatinina foram reduzidos no período pós-parto permitindo dessa forma uma maior estimativa de excreção urinária diária para os animais em relação ao período pré-parto. Isso ocorre porque a creatinina é formada no músculo pela remoção de água da creatina fosfato, originada do metabolismo do tecido muscular (HARPER et al., 1982). Assim a produção diária de creatinina, e por conseguinte, a excreção creatinina é dependente da massa muscular, portanto proporcional ao peso do animal (KOREN, 2000). Por isso diante das mudanças fisiológicas no período pós-parto e do balanço energético negativo ocorre redução do peso vivo como consequência da mobilização de reservas corporais e dessa forma mobilização de musculo.

4.4 Produção e composição do leite

As rações experimentais não influenciaram ($P>0,05$) o consumo de matéria seca (CMS) em porcentagem do peso vivo, o escore de condição corporal (ECC), mudança de escore de condição corporal (MECC), peso corporal (PC) e mudança de peso corporal (MPC) no período pré-parto (Tabela 11).

O consumo de matéria seca em porcentagem do peso vivo, mudança de escore de condição corporal (MECC), peso corporal (PC) e mudança de peso corporal (MPC) foram influenciadas pelas semanas no período pré-parto. Nenhuma das variáveis avaliadas apresentou efeito de interação entre semanas e rações experimentais no período pré-parto.

Tabela 11- Médias e coeficientes de variação (CV) do consumo de matéria seca (CMS), do escore de condição corporal (ECC), do peso corporal (PC), do balanço de energia (BE), da produção de leite sem (PL) e com correção para 3,5% de gordura (PLC), teor (G%) e produção de gordura do leite (Gkg), em função das rações experimentais

Item	Rações experimentais			Média	CV (%)	Valor de P ⁴				
	C ¹	OS ²	SC ³			Ração	Tempo	Int.	C X G ⁵	OS X SC ⁶
				Pré-parto						
ECC	3,05	3,23	3,13	3,14	13,51	0,267	0,307	0,961	0,175	0,388
PC (kg)	649,98	662,99	634,56	649,62	12,22	0,357	0,015	0,997	0,945	0,153
BE ⁷	2,65	1,16	1,35	1,72	-	0,191	<0,001	0,768	0,071	0,836
				Pós-parto						
PL	32,27	30,46	30,98	31,24	9,93	0,744	<0,001	0,138	0,465	0,829
PLC	31,26	28,05	26,88	28,73	13,36	0,076	<0,001	0,003	0,029	0,543
G%	3,36	3,11	2,81	3,09	19,40	0,015	<0,001	0,024	0,013	0,098
Gkg	1,06	0,92	0,84	0,94	20,71	0,005	<0,001	0,015	0,002	0,192
ECC	2,69	2,52	2,54	2,58	16,04	0,001	0,070	0,988	<0,001	0,443
PC (kg)	596,66	564,94	592,02	584,83	11,55	<0,001	0,997	0,999	0,019	0,002
BE ⁷	-2,00	-2,75	0,32	-1,47	-	<0,001	<0,001	0,998	0,083	<0,001

¹ Controle; ² óleo de soja; ³ Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®). ⁴ Valor da probabilidade da análise multivariada considerando os efeitos fixos de rações, tempo e interação das duas variáveis. ⁵ contrastes ortogonais C1 (dieta controle vs óleo de soja e sais de cálcio), e C2 (dieta óleo de soja vs sais de cálcio). ⁷ Mcal/dia.

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre o CMS em % do PV. Este resultado pode ser atribuído a diferença no peso corporal para o grupo dos animais que receberam a ração óleo de soja em relação aos animais que receberam as rações controle e sais de cálcio de ácidos graxos. O grupo dos animais submetidos às rações contendo sais de cálcio de ácidos graxos e controle apresentaram maiores ($P<0,001$) médias de peso corporal e escore de condição corporal, 596,66 kg, e 592,02 kg e 2,69 e 2,54 respectivamente quando comparada à ração contendo óleo de soja com valores de 564,94 kg e 2,52 de ECC.

O consumo de matéria seca em porcentagem do peso vivo no período pós-parto foi influenciado pelo efeito de semanas de lactação. Este resultado se deve a elevação do CMS influenciado pela produção de leite ao longo dos dias pós-parto até o pico de lactação que neste estudo ocorreu por volta da oitava semana pós-parto (Gráfico 1B).

Houve interação entre as semanas de lactação e as rações experimentais para o CMS e o CMS em porcentagem do peso vivo. O grupo dos animais submetidos à ração contendo óleo soja apresentou menor inclinação da curva de CMS em porcentagem do peso vivo a partir da segunda semana de lactação em relação às demais rações experimentais (Gráfico 1B).

A

B

Gráfico 1 - Efeito das rações experimentais sobre consumo de matéria seca em kg/dia (A) e porcentagem do peso vivo (B) nos períodos pré e pós-parto

A produção de leite (PL), e a produção de leite corrigida para gordura (PLC), apresentadas nos gráficos 2A e B não foram influenciadas pelas rações experimentais (Tabela 4). De acordo com Onetti e Grummer (2004), a resposta positiva à suplementação de gordura dietética deve ser esperada, em virtude da maior disponibilidade de energia líquida, desde que não ocorra redução no consumo de matéria seca.

Quando avaliados os contrastes foi observada redução no teor e na produção de gordura do leite ($P < 0,05$) quando as vacas foram suplementadas com as rações contendo fontes de gordura, especialmente para a ração contendo sais de cálcio de ácidos graxos. Em função da produção de leite corrigida para 3,5% de gordura ser uma combinação de variáveis, foi observada interação entre as rações e as semanas de lactação para esta variável.

Parece que a redução do teor de gordura do leite obtido com a ração de sais de cálcio de ácidos graxos se deve aos efeitos dos ácidos graxos intermediários da biohidrogenação ruminal, o que está de acordo com o estudo de Pantoja et al. (1994). Normalmente estas alterações são atribuídas a um impacto negativo na digestão ruminal da fibra, que, compromete a síntese de novo de ácidos graxos (BAUMAN; GRINARI, 2001).

A

B

Gráfico 2 - Efeito das rações experimentais sobre a produção de leite (A) e produção de leite corrigida (B) no período pós-parto

Os ácidos graxos trans são compostos intermediários do processo de biohidrogenação ruminal de gorduras insaturadas por microrganismos ruminais. O aumento da absorção dos ácidos graxos trans no sangue induz a diminuição do teor de gordura do leite. No entanto neste estudo não foram observadas tais resultados visto que a ração contendo óleo de soja não reduziu o teor de gordura do leite de forma acentuada (BAUMAN; GRIINARI, 2001).

Andersen et al. (2008) avaliaram a utilização de um suplemento comercial de ácidos graxos em uma dieta com 8,0 % de EE na matéria seca total em 29 vacas Holandesas com média de produção de leite de 35kg/vaca/dia utilizando a silagem de milho como maior parte do volumoso. Estes autores não observaram efeito das rações experimentais sobre a produção de leite e a produção de leite corrigida e o teor e a produção de gordura do leite.

O teor e a produção de gordura do leite foram influenciados pelas semanas de lactação ($P>0,001$). Este resultado pode ser explicado pelo efeito de diluição que ocorre do parto até o pico de lactação pelo aumento da produção de leite formando uma curva decrescente do teor de gordura. Maior diferença foi observada para o teor de gordura do leite para as vacas submetidas a ração com sais de cálcio a partir da segunda semana de lactação em relação às demais rações experimentais.

Freitas Junior et al. (2009) avaliaram a inclusão de óleo de soja, sais de cálcio e grão de soja em dietas com 5,5 % de EE na matéria seca total em vacas no terço médio de lactação com média de produção de 25kg/vaca/dia (No prelo)². Estes autores observaram que os animais que consumiram a ração com sais de cálcio de ácidos graxos apresentaram menor teor de gordura no leite em relação às demais rações experimentais e que este resultado pode ser atribuído a formação e ácidos graxos intermediários da biohidrogenação no rúmen já que não houve redução da digestibilidade de fibra ou alterações no padrão de fermentação no rúmen.

Na terceira semana de lactação as diferenças nos teores de gordura no leite dos animais submetidos às rações experimentais se apresentaram bem definidas com valores de 3,0%, 3,40% e 3,90% para as rações sais de cálcio de ácidos graxos, óleo de soja e controle respectivamente (Gráfico 3). A partir da oitava semana de lactação, o teor de gordura do leite dos animais que receberam a ração com óleo de soja tendeu a reduzir apresentando valores abaixo dos obtidos para as rações sais de cálcio e controle nas semanas 11 e 12 de pós-parto (Gráfico 3).

² FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P.; SANTOS, M. V.; GANDRA, J. R.; MATURANA FILHO, M.; VENTURELLI, B. C. Desempenho produtivo e composição da fração protéica do leite de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2009. No prelo.

A

B

Gráfico 3 - Efeito das rações experimentais sobre o teor de gordura do leite (A) e produção de gordura (B) no período pós-parto

De acordo com Bernal-Santos et al. (2003) e Selberg et al. (2004), a diminuição do teor de gordura no leite pode ajudar a minimizar o balanço energético negativo no início da

lactação, melhorando o status metabólico de vacas leiteiras neste período, particularmente nas primeiras quatro semanas, sendo uma opção de manejo sob algumas circunstâncias de produção. Isso pode ter ocorrido para os animais submetidos à ração com sais de cálcio de ácidos graxos devido ao menor consumo de matéria seca obtido para esta ração no período pós-parto em relação às demais rações, o que de certa forma promoveu maior mobilização de reservas corporais (Tabela 11).

Entretanto, é preciso considerar que o teor de gordura obtido para os animais submetidos à ração com sais de cálcio se manteve com valores menores que as demais rações quase todo o período de lactação (Gráfico 3A), embora o teor de gordura no leite dos animais submetidos à ração contendo óleo de soja também manteve valores menores de consumo de matéria quando comparada a ração controle. DeFrain et al. (2005) avaliaram a inclusão de sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma em 40 vacas Holandesas no período de transição com dietas de 5,5 % de EE com base na matéria seca total. Estes autores não observaram efeito das fontes de gordura sobre o teor e a produção de gordura do leite e além de verificarem alterações no CMS.

Gráfico 4 - Efeito das rações experimentais sobre o balanço de energia nos períodos pré e pós-parto

O balanço de energia (BE) não foi influenciado pelas rações experimentais no período pré-parto, houve somente efeito de tempo ($P<0,001$) no período pré-parto (Tabela 4). Houve efeito de tratamento, de tempo e de fonte de gordura no balanço de energia no período pós-parto, quando avaliados os contrastes, as vacas do grupo sais de cálcio de ácidos graxos apresentaram melhor balanço de energia quando comparadas as vacas do grupo óleo de soja (Gráfico 4).

O efeito de tempo encontrado no período pré-parto para o balanço de energia pode estar associado a tendência encontrada de melhor consumo de matéria seca e consumo de matéria seca em porcentagem do peso vivo para as vacas do grupo controle no período pré-parto, o que está de acordo com o estudo de Onetti e Grummer (2004), que descreveram que a resposta positiva à suplementação de gordura em dietas de vacas leiteiras está associada ao consumo de matéria seca.

Os resultados encontrados para o balanço de energia no período pós-parto pode estar relacionado ao maior consumo de matéria seca das vacas do grupo controle e do grupo sais de cálcio de ácidos graxos em relação as vacas do grupo óleo de soja. Outro fator que pode explicar o melhor balanço de energia das vacas do grupo sais de cálcio é a redução que foi observada no teor e na produção de gordura do leite ($P<0,05$).

De modo semelhante, foi encontrado melhora do balanço de energia de vacas holandesa alimentadas com dietas lipogênicas durante o período de transição no estudo conduzido por Van Kneegsel et al. (2007), efeito este, que os autores associaram a uma redução da partição de nutrientes para gordura do leite e da mobilização de gordura corporal.

4.5 Parâmetros Sanguíneos

As concentrações no soro de glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β -hidroxibutirato (BHB) não foram influenciadas ($P>0,050$) pelas fontes de gordura adicionadas nas rações nos períodos pré e pós-parto (Tabela 12).

Todos os parâmetros sanguíneos avaliados apresentaram efeito de dias no período pós-parto. De acordo com Drakcley (1999) este resultado pode ser esperado devido às mudanças fisiológicas que ocorrem no período de transição, especialmente o aumento do consumo de matéria seca em detrimento da produção de leite resultando dessa forma, em variações do

metabolismo basal, maior fluxo sanguíneo de nutrientes e partição destes entre os diferentes tecidos periféricos.

Não houve interação entre o tempo e as rações experimentais para as concentrações no soro de glicose e AGNE no pré-parto e BHB no pós-parto. Defrain et al. (2005) e Cerri et al. (2009) avaliaram efeito da suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma e sais de cálcio de óleo de soja em vacas no período de transição com dietas apresentando teor de extrato etéreo de aproximadamente 5,5 % na matéria seca total no pós-parto. Estes autores não observaram interação entre as rações experimentais e as semanas de lactação sobre as concentrações de glicose tanto no pré quanto no pós-parto.

Quando avaliados os contrastes, não houve diferença entre a ração controle e as rações com fontes de gordura, para os parâmetros sanguíneos avaliados neste estudo nos períodos pré e pós-parto.

Houve interação entre o tempo e as rações experimentais para as concentrações de glicose e AGNE no pós-parto. As concentrações de glicose, foram menores para a ração contendo sais de cálcio de ácidos graxos no período pós-parto principalmente a partir dos 18 primeiros dias de lactação (Gráficos 5A, 6B, 7 e Tabela 12). Este resultado pode ser justificado em parte pelo menor consumo de matéria seca obtido para as rações contendo fontes de gordura quando comparada a ração controle.

Tabela 12 - Médias e coeficientes de variação (CV) para as concentrações pré e pós-parto de glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNE), β -hidroxibutirato (BHB), de acordo com as rações experimentais

Parâmetros	Rações Experimentais			Média	CV (%)	Valor de P ⁴				
	C ¹	OS ²	SC ³			Ração	Tempo	Int.	C X G ⁵	OS X SC ⁶
Glicose	mg/dl									
Pré-parto	69,00	61,11	72,30	67,21	20,63	0,137	0,178	0,235	0,533	0,059
Pós-parto	62,78	62,08	57,81	61,00	19,30	0,394	0,004	<0,001	0,352	0,318
	mmol/L									
AGNE										
Pré-parto	0,66	0,79	0,66	0,68	41,82	0,357	<0,001	0,107	0,650	0,178
Pós-parto	0,80	0,87	0,80	0,82	40,58	0,772	<0,001	<0,001	0,666	0,574
BHB										
Pré-parto	0,67	0,54	0,74	0,63	28,53	0,167	0,002	0,521	0,654	0,068
Pós-parto	0,70	0,59	0,78	0,66	47,85	0,196	<0,001	0,639	0,872	0,075

¹ Controle; ² óleo de soja; ³Sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac-E®). ⁴ Valor da probabilidade da análise multivariada considerando os efeitos fixos de rações, tempo e interação das duas variáveis. ⁵ Valor da probabilidade dos contrastes ortogonais Controle x Gordura (C x G) (dieta controle vs óleo de soja e sais de cálcio), e OS x SC (dieta óleo de soja vs sais de cálcio).

Quando avaliados os contrastes, não houve diferença entre a ração controle e as rações com fontes de gordura, para os parâmetros sanguíneos avaliados neste estudo nos períodos pré e pós-parto.

Houve interação entre o tempo e as rações experimentais para as concentrações de glicose e AGNE no pós-parto. As concentrações de glicose foram menores para a ração contendo sais de cálcio de ácidos graxos no período pós-parto principalmente a partir dos 18 primeiros dias de lactação (Gráficos 5A, 6B, 7 e Tabela 4). Andersen et al. (2008) avaliaram 29 vacas da raça Holandesa com suplemento comercial de ácidos graxos perfazendo um total de 8,0 % de EE na matéria seca para a ração com fonte de gordura. Estes autores não observaram efeito das semanas de lactação sobre as concentrações de glicose no pré e pós-parto.

A

Gráfico 5 - Efeito das fontes de gordura sobre a concentração sanguínea de glicose (A) e albumina (B) nos períodos pré e pós-parto

Não houve interação entre o tempo e as rações experimentais nos períodos pré e pós-parto para as concentrações de BHB. Quando é observada a variação diária da concentração de BHB no soro para todas as rações experimentais (Gráfico 8B), a ração contendo óleo de soja apresenta menores concentrações 0,54 mmol/L aos 11 dias pré-parto, em relação à ração controle e a ração com sais de cálcio de ácidos graxos com valores de 0,67 mmol/L e 0,64 mmol/L respectivamente. Entretanto, o pico de maior concentração de BHB no pós-parto imediato foi obtida para a ração com óleo de soja 1,10 mmol/L aos 4 dias pós-parto quando comparada a ração com sais de cálcio de ácidos graxos e controle que apresentaram concentrações de 0,84 e 0,95 mmol/L respectivamente no dia do parto.

As concentrações de AGNE se apresentaram baixas no pré-parto 0,5 mmol/L e aumentaram de forma acentuada de quatro dias antes do parto até 11 dias pós-parto (Gráfico 8A). De acordo com Grummer et al. (1993) esse rápido aumento nas concentrações de AGNE no pós-parto pode ser resultado de uma regulação fisiológica que ocorre proveniente da redução acentuada no consumo de matéria seca e liberação de hormônios lipolíticos que em conjunto agem durante o aparecimento do partos.

No pós-parto de fato, a maior concentração de AGNE no soro se deve ao processo de adaptação fisiológica pelo qual as fêmeas de qualquer espécie são submetidas neste período, no qual ocorre aumento da produção de leite que não é acompanhada pelo aumento consumo de matéria seca, favorecendo o balanço negativo de nutrientes, principalmente energia. Essa situação desencadeia uma série de alterações fisiológicas pelas quais o organismo prioriza a mobilização de tecidos corporais principalmente gordura consistindo então em uma fonte alternativa de energia para suprir a demanda energética de manutenção e principalmente produção de leite que não foi atendida pela dieta (WALTNER et al., 1993; DRAKCLEY et al., 1999).

Duske et al. (2009) avaliaram a suplementação de sais de cálcio de ácidos graxos em 80 vacas da raça Holandesa com média de produção de 35,0 kg/vaca /dia utilizando as dietas controle com 2,7 % de EE e com gordura 5,5 % de EE com base na matéria seca total. Estes autores observaram valores de AGNE semelhantes aos obtidos neste estudo 0,85 mmol/L para AGNE e 1,10 mmol/L para as concentrações de BHB aos 11 dias pós-parto.

A

B

Gráfico 6 - Efeito das fontes de gordura sobre a concentração sanguínea de β-Hidroxibutirato (A) e ácidos graxos não esterificados (B) nos períodos pré e pós-parto

Houve interação entre os dias de lactação e as rações experimentais ($P < 0,001$) para as concentrações AGNE no pós-parto. A ração contendo óleo de soja apresentou maior concentração de AGNE no soro no período pós-parto em relação às rações controle e sais de cálcio de ácidos graxos principalmente do parto aos primeiros 18 dias de lactação ($P < 0,05$) (Gráfico 9A). Esse resultado pode ser justificado pela redução no consumo de matéria seca para a ração com óleo de soja quando comparada as demais rações experimentais no pós-parto, pois não houve redução na produção de leite dos animais submetidos a essa mesma ração indicando maior mobilização de gordura corporal para suprir a demanda de nutrientes destinados à produção de leite (Tabela 5). Osborne et al. (2009) avaliaram a suplementação de óleo de soja e utilizaram como volumosos a silagem de milho em 90 vacas da raça Holandesa no período de transição e observaram que as concentrações de AGNE se mantiveram constantes aumentando consideravelmente dois dias após o parto. Colazo et al. (2009) avaliaram uma mistura de fontes de gordura (óleo de canola, sais de cálcio de ácidos graxos, óleo de girassol) em um total de 8% de inclusão de fontes de gordura nas rações de 72 vacas Holandesas com dietas no pré-parto perfazendo um total de 5,95 % de EE e no pós-parto de 5,45 % de EE a base de silagem de alfafa e cevada. Estes autores não observaram efeito das rações experimentais sobre as concentrações e AGNE no pós-parto, no entanto verificaram interação entre as rações experimentais e os dias de lactação.

5 CONCLUSÃO

Os dados obtidos neste experimento sugerem que a suplementação com fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação influenciam positivamente a digestibilidade da matéria seca e nutrientes, balanço de energia e o desempenho produtivo, porém reduzem o teor de gordura do leite dos animais. Os parâmetros de fermentação ruminal foram influenciados pela suplementação de gordura, dependendo da fonte de gordura utilizada, sem no entanto, influenciar a síntese de proteína microbiana.

REFERÊNCIAS

ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1630, 2000.

ANDERSEN, J. B.; RIDDER, C.; LARSEN, T. Priming the cow for mobilization in the periparturient period: effects of supplementing the dry cow with saturated fat or linseed. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1029-1043, 2008.

ARAÚJO, C. N. L. et al. Caracterização do óleo das sementes de doze genótipos de girassol (*Helianthus annuus*, L.) obtidos sob condições climáticas do Estado do Ceará. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 901-906, 1994.

BATEMAN, H. G.; CLARK, J. H. Soybean based feeds for dairy cows, Illini Dairy Net, The online resource for the dairy industry. Disponível em: <www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/>. Acesso em: 15 julho 2009.

BATEMAN, H. G.; JENKINS, C. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to non lactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**. v. 81, n. 9, p. 2451-2458, 1998.

BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. In: TRI-STATE NUTRITIONAL CONFERENCE, 2006, Ohio. **Proceedings...** 2006. p. 1-14.

BAUMAN, D. E.; GRINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v. 70, p. 15-29, 2001.

BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L. **Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows.** In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 15., 2006, West Lafayette, Cornell University, **Proceedings...** 2006. 14 p.

BERNAL-SANTOS, G. L.; PERFIELD II, J. W.; BARBANO, D. M. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3218-3228, 2003.

BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R.; CADORNIGA-VALINO, C.; STODDARD, E. E. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1914-1922, 1992.

BICKERSTAFFE, A. N.; WARNER, R. G. Influence of varying temperature on central cooling and warming and on regulation of voluntary feed intake in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 51, p. 1481-1489, 1968.

BORBA, L. R. O.; STUMPF JUNIOR, W.; FISCHER, V.; FERNANDES, A. Níveis crescentes de gordura na dieta de vacas leiteiras de alta produção. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, n. 1, p. 87-92, 2006.

BRODERICK, G. A. Alfalfa silage or hay versus corn silage as the sole forage for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 3262-3271, 1985.

BURR, M. L. Fish and the cardiovascular system. **Progremer Foods Nutrition Science**, v. 13, p. 291-316, 1989.

BYERS, F. M.; SCHELLING, G. T. Los lípidos en la nutrición de los rumiantes. In: CHURCH, C. D. **El rumiante: fisiología y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 339-356.

CARVALHO, N. M.; MULHLBACH, P. R. F. Desempenho de vacas em lactação, recebendo grãos de soja crus ou tostados, na composição da dieta. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. [**Anais...**]. 2002. 5 p. CD-Rom.

CASALI, A. O. **Procedimentos metodologicos *insitu* na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. 2006, 47 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CASPER, D. P.; SCHINGOETHE, D. J.; MIDDAUGH, R. P.; BAER, R. J. Lactational responses of dairy cows to diets containing regular and high oleic acid sunflower seeds, **Journal of Dairy Science**, v.71, p.1267-1274, 1988..

CHALUPA, W.; RICKABAUGH, B.; KRONFELD, D. S.; DAVID, S. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 1439-1444, 1984.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – **an overview of technical details**. **Bucksburnd: rowett research institute; international feed resources unit, 1992. 21p. (occasional publication)**.

CHEW, B. P.; MALVEN, P. V.; ERB, R. E.; ZAMET, M. F.; CLAUDIE N.; D'AMICO, M. F.; COLENBRANDER, V. F. Variables associated with peripartum traits in dairy cows. iv. seasonal relationships among temperature, photoperiod, and blood plasma prolactin. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 1394-1398, 1979.

CHILLIARD, Y. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a Review. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 12, p. 3897-3931, 1993.

CHIZZOTTI, M. L. Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas leiteiras. **Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 132p. Dissertação (Mestrado em zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, 2004.**

CLARK, P.W.; ARMENTANO, L. E. Effectiveness of neutral detergent fiber in whole cottonseed and dried distillers grains compared with alfalfa haylage. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2644-2650, 1993.

COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Milk yield, and composition supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 3826-3837, 1991.

CORRÊA, A. M. V. **Utilização da soja em diferentes formas na alimentação de vacas leiteiras**. 2007, 128 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

CZERKAWSKI, J. W. Microbial fermentation in the rumen. **Proceedings Nutrition Society**, v. 43, p. 101-180, 1984.

DAVIS, C. L.; BROWN, R. E. Low-fat milk syndrome. In: PHILLIPSON, A.T. (Ed.). **Physiology of digestion and metabolism in the ruminant**. Newcastle upon Tyne, UK: Oriel Press Limited, 1970. p.545- 565

DEFRAIN, J. M.; HIPPEN, A. R.; KALSCHEUR, K. F.; PATTON, R. S. Effects of feeding propionate and calcium salts of long-chain fatty acids on transition dairy cow performance. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 983-993, 2005.

DHIMAN, R.; SATTER, L. D.; PARIZA, M. W.; GALLI, M. P.; ALBRIGHT, K.; TOLOSA, M. X. Conjugated Linoleic Acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1016-1027, 2000.

DHIMAN, T. R.; SATTER, L. D. Yield response of dairy cows fed different proportions of alfalfa silage and corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2069-2087, 1997.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v. 78, p. 15-35, 1997.

DOREAU, M.; FERLAY, A. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 45, p. 379-396 379, 1994.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier, **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259-2273, 1999.

DUARTE, L. M. A.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V.; SALLA, L. E. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey sobre o consumo, a produção e a composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2020-2028, 2005.

DUSKE, K.; HAMMON, H. M.; LANGHOF, A.-K.; BELLMANN, O.; LOSAND, B.; NÜRNBERG, K.; NÜRNBERG, G.; SAUERWEIN, H.; SEYFERT, H. M.; METGES, C. C. Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1670-1684, 2009.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.

ELLIOTT, J. P.; DRACKLEY, J. K.; SCHAUFF, D. J.; JASTER, E. H. Diets containing high oil corn and tallow for dairy cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 775-789, 1993.

FALDET, M. A.; SATTER, L. D. Feeding heat-treated full fat soybeans to cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3047-3054, 1991.

FAY, J. P.; JAKOBER, K. D.; CHENG, K. J.; COSTERTON, J. W. Esterase activity of pure cultures of rumen bacteria as expressed by the hydrolysis of p-nitrophenylpalmitate, **Canadian Journal Microbial**, v.17, n. 12, p. 365-385, 1990.

FERGUSON, J. D.; SKLAN, D.; CHALUPA, W. V.; KRONFELD, D. S. Effects of hard fats on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production, and reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 10, p. 2864-2879, 1990.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemical**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GONZALEZ, F. H. D.; ROCHA, J. A. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 26, p. 52-64, 1998.

GRUM, D. E.; HANSEN, L. R.; DRACKLEY, J. K. Peroxisomal & oxidation of fatty acids in bovine and rat liver. **Comparative Physiology and Biochemistry**, v. 109, n. 1/2, P. 281-292, 1994.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3882-3896, 1993.

GRUMMER, R. R. Gordura da dieta: fonte energética e/ou regulador metabólico? In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 8., 2004, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: CONAPEC JR.; UNESP-BOTUCATU, 2004. p. 83-108.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrients metabolism on feeding the transition cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

GRUMMER, R. R.; HATFIELD, M. L.; DENTINE, M. R. Acceptability of fat supplements in four dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 3, p. 852-857, 1990.

GWAZDAUSKAS, F. C.; KENDRICK, K. W.; PRYOR, A. W. Impact of follicular aspiration on folliculogenesis as influenced by dietary energy and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1625-1634, 2000.

HALL, M. B. Making nutritional sense of nonstructural carbohydrate. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9., 1998, Gainesville, FL. **Proceedings...** Gainesville: Florida University Press, 1998. p. 108-121.

HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. London, UK: Chapman & Hall, 1997. p. 382-426.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of Fatty Acid Supplements on Milk Yield and Energy Balance of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1081-1091, 2006.

HAWKE, J. C.; SILCOCK, W. R. The in Vitro Rates of Lipolysis and Biohydrogenation in Rumen Contents. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 112, p. 201-218, 1970.

HAWKINS, G. A.; SOLINAS-TOLDO, S.; BISHOP, M. D.; KAPPES, S. M. ; FRIES, R.; BEATTIE, C. W. Physical and linkage mapping of the bovine genome with cosmids. **Mammalia Genome**, v. 6, p. 249-254, 1995.

HENDERSON, C.; HODGKISS, W. An electron microscopic study of *Anaerovibrio lipolytica* (strain 5S) and its lipolytic, **Journal of General Microbiol**, v. 76, n. 2, p. 389-393, 1973.

HERAVI MOUSSAVI, A. R.; GILBERT, R. O.; OVERTON, T. R.; BAUMAN, D. E.; BUTLER, W. R. Effects of feeding fish meal and n-3 fatty acids on ovarian and uterine responses in early lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 9, p. 145-154, 2007.

JENKINS, T. C. Butylsoyamide protects soybean oil from ruminal biohydrogenation: effects of butylsoyamide on plasma fatty acids and nutrient digestion in sheep. **Journal Animal Science**, v. 73, p. 818-823, 1995.

JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3851-3863, 1993.

JENKINS, T. C.; JENNY, B. F. Nutrient digestion and lactation performance of dairy cows fed combinations of prilled fat and canola oil. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 3, p. 796-803, 1992.

JERRED, M. J.; CARROL, D. J.; COMBS, D. K.; GRUMMER, R. R. Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on lactation performance of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 10 p. 2842-2854, 1990.

KALSCHEUR, K. F.; TETER, B. B.; PIPEROVA, L. S.; ERDMAN, R. A. Effect of fat source on duodenal flow of *trans*-C_{18:1} fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2115-2126, 1997.

KEMP, P.; LANDER, D. J. Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. **Journal of General Microbiol**, v. 130, p. 527-533, 1984.

KENDRICK, K. W.; BAILEY, T. L.; GARST, A. S.; PRYOR, A. W.; AHMADZADEH, A.; AKERS, R. M.; EYESTONE, W. E.; PEARSON, R. E.; GWAZDAUSKAS, F. C. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating holstein cows using transvaginal follicular aspiration. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1731-1740, 1999.

KEPLER, C. R.; TUCKE, W. P.; TOVE, S. B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleic δ -12-*cis*, δ -11-*trans*-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 245, p. 3612-3820, 1970.

KLUSMEYER, I. H.; LYNCH, G. L.; CLARK, J. H.; NELSON, D. R. Effects of Calcium Salts of Fatty Acids and Protein Source on Ruminal Fermentation and Nutrient Flow to Duodenum of Cows, **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 2206-2219, 1991.

LEHNINGER A. **Princípios da bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier; 2002.

LOCK, A. L.; BAUMAN, D. E.; GARNSWORTHY, P. C. Short communication: effect of production variables on the *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid content of cows' milk. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 2714-2717, 2005.

LÓPEZ, S.; LÓPEZ, J.; STUMPF JUNIOR, W. Produção e composição do leite e eficiência alimentar de vacas da raça Jersey suplementadas com fontes lipídicas. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 15, n. 1, p. 1022-1301, 2007.

MCNAMARA, S.; BUTLER, T.; RYAN, D. P.; MEE, J. F.; DILLON, P.; O'MARA, F. P.; BUTLER, S. T.; ANGLESEY, D.; RATH, M.; MURPHY, J. J. Effect of offering rumen protected fat supplements on fertility performance in spring-calving Holstein-Friesian cows. **Animal Reproduction Science**, v. 79, p. 45- 56, 2003.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p. 1217-1240, 2002.

NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2051-2069, 1988.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washinton, D.C.: National Academic Press. 2001. 381 p.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washinton, D.C.: National Academic Press, 2001. 381 p.

OLSON, J. Estratégias de nutrición para vacas en transición. **Hoard's Dairyman**, n. 88, p. 288, 2002.

ONETTI S, G.; GRUMMER, R. R. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: A meta-analysis of literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, n. 1/2, p. 65-82, 2004..

ONETTI, S. G.; SHAVER, R. D.; MCGUIRE, M. A.; GRUMMER, R. R. Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 2751-2759, 2001.

ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. ET AL. **Excretion of purine derivates in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases.** *Livestock production science*, v.68, p.243-250, 2001.

OSBORNE, V. R.; ODONGO, N. E.; CANT, J. P.; SWANSON, K. C.; MCBRIDE, B. W. Effects of supplementing glycerol and soybean oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance of per parturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 698-707, 2009.

PALMQUIST, D. L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 1354-1360, 1991.

PALMQUIST, D. L. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 6., 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1989. p. 11-25.

PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. In: ORSKOV, E. R. (Ed.). **World animal science**. B. Disciplinary approach. 4. Feed Science. Amsterdam: Elsevier, 1988. p. 293-311.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: Review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 1-14, 1980.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 287-310.

PALMQUIST, D. L.; WEISBJERG, M. R.; HVELPLUND, T. Ruminant, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cows fed diets high in fat and undegradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1353-1364, 1993.

PANTOJA, J.; FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 8, p. 2341-2356, 1994.

PENNINGTON, J. A.; DAVIS, C. L. Effects of Intraruminal and Intra-Abomasal Additions of Cod-Liver Oil on Milk Fat Production in the Cow. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p.49-55, 1975.

PORTO, W. S.; CARVALHO, C. G. P.; PINTO, R. J. B. Adaptabilidade e estabilidade como critérios para seleção de genótipos de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 491-499, 2007.

RAFALOWSKI, W.; PARK, C. S. Whole sunflower seed as a fat supplement for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 1484, 1982.

SANTOS, F. L.; LANA, R. P.; SILVA, M. T. C.; LANA, R. P.; BRANDÃO, S. C. C.; VARGAS, L. H.; ABREU, L. R. Produção e composição do leite de vacas submetidas a dietas contendo diferentes níveis e formas de suplementação de lipídios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1376-1380, 2001.

SARDESAI, V. M. Nutritional role of polyunsaturated fatty acids. **Journal Nutrition Biochemichs**, v. 3, p. 154-166, 1992.

SAS. STATISTICAL ANALISYS/STAT. **SAS**: user's guide. Release 8.0. Cary: SAS, 1999. 1500 p.

SCHAUFF, D. J.; ELLIOIT, J. P.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing whole soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1923-1935, 1992 a

SCHROEDER, G. F.; GAGLIOSTRO, G. A.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. Supplementation with partially hydrogenated oil in grazing dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 580-594, 2002 .

SELBERG, K. T.; LOWE, A. C.; STAPLES, C. R. Production and metabolic response of periparturient Holstein cows to dietary conjugated linoleic acid and trans-octadecenoic acids. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 158-168, 2004.

SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRUN, A.; DEVORIN, A.; TABORI, K. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2463-2472, 1992.

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: in: carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 12, p. 3562-3577, 1992..

STAPLES, C. R.; BURKE, J. M.; THATCHER, W. W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 856-871, 1998.

STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R. Fat supplementation strategies for lactating dairy cow diets. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras:UFLA, 2001. p. 161-178.

STEVENSON, J. S.; PURSLEY, J. R. Resumption of follicular activity and interval postpartumovulation after exogenous progestins. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 725-734, 1994.

THATCHER, W. W.; STAPLES, C. R.; MACLAREN, L. Efeitos biológicos dos lipídeos em parâmetros reprodutivos de vacas leiteiras em lactação. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 8., 2004, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: CONAPEC JR.; UNESP-BOTUCATU, 2004. p. 115-132.

TICE, E. M.; EASTRIDGE, M. L.; FIRKINS, J. L. Raw soybeans and roasted soybeans of different particle sizes. 1. digestibility and utilization by lactating cows, **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 224-235, 1993.

UEDA, K.; FERLAY, A.; CHABROT, J.; LOOR, J. J.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3999-4007, 2003.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa: UFV, 2006. 329 p.

VALADARES FILHO, S. Exigências nutricionais de gado de leite. In: SIMPOSIO MINEIRO DE NUTRICAÇÃO DE GADO DE LEITE. 2002, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Escola de Veterinária, UFMG, 2002.

VAN SOEST, P. J.; MASON, V. C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 45-53, 1991.

VANDEHAAR, M. J.; SHARMA, B. K.; FOGWELL, R. L. Effect of dietary energy restriction on the expression of insulin-like growth factor-i in liver and corpus luteum of heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 832-841, 1995.

VARGAS L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; SANTOS, F. L.; QUEIROZ, A. C.; MANCIO, A. B. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 522-529, 2002.

WALTNER, S. S.; MCNAMARA, J. P.; HILLERS, J. K. Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3410-3419, 1993.

WEISS, W. P.; CONRAD, H. R.; PIERRE, N. R. S. T. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science Technology**, v. 39, p. 95-110, 1992.

WILDMAN, O. E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

WILTBANK, M.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GUMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, p. 17-29, 2006.

WU, Z.; OHAJURUKA, O. A.; PALMQUIST, D. L. Ruminant synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3025-3034, 1991.