**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Doses de concentrado com ou sem gordura inerte na dieta de
vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais**

Fernanda Lopes Macedo

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

**Piracicaba
2012**

Fernanda Lopes Macedo
Zootecnista

Doses de concentrado com ou sem gordura inerte na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **FLÁVIO AUGUSTO PORTELA SANTOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Macedo, Fernanda Lopes

Doses de concentrado com ou sem gordura inerte na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais / Fernanda Lopes Macedo. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2012.
108 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Alimentação animal 2. Bovinos leiteiros 3. Dieta animal 4. Forragem
5. Lactação animal 6. Pastagens 7. Suplementos energéticos para animais I. Título

CDD 636.2084
M141d

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICO À MINHA MÃE
ROSECLARY FIRMINO LOPES MACEDO (in memorian)

OFEREÇO À MINHA FAMÍLIA:

CASSILDA, ROSEMARY E CARLOS HENRIQUE

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

À Deus pela vida que tenho, por iluminar e guiar pelos melhores caminhos;

À minha família, Cassilda, Rosemary e Carlos por me oferecer todo apoio de forma incondicional. Amor, carinho, conselhos risadas, conversas que foram muito valiosos e necessários nesta etapa cumprida;

Aos amigos de longa data Ari, Camila, César, Day, Ferr, Gleire, Ives e Tanabi sempre presentes nos melhores e piores momentos, pela sintonia que existe entre nós e que tenho certeza que farão parte da minha vida inteira;

À UNESP – Dracena e todos os docentes que contribuíram para minha formação profissional; à APTA Adamantina e Acyr Freitas pela oportunidade de ingressar na iniciação científica;

Ao Prof. Flávio pela confiança em me receber, pelos ensinamentos profissionais, pessoais e pelas conversas descontraídas que levarei sempre comigo com respeito e admiração;

Ao Prof. Sila Carneiro e Prof. Geraldo dos Santos por fazerem parte do Comitê de Orientação;

Aos membros da Banca examinadora, Prof. Fernanda Cipriano, Dr. Alexandre Pedroso, Prof. Wilson Mattos, Prof. Luiz Gustavo Nússio pela disponibilidade e contribuições na presente dissertação;

À Prof. Carla Bittar pela disponibilidade e ajuda nas análises laboratoriais; Prof. Carlos Tadeu e Marcelo Corrêa pela ajuda com as análises estatísticas;

Aos demais Professores do Dept. de Zootecnia pela formação profissional;

Ao Alexandre Pedroso (Bolo) por suas constantes contribuições profissionais e pessoais;

Aos funcionários do Dept. de Zootecnia (Secretárias, Denise, Daiane, Meire), do Laboratório de Bromatologia (César, Alan e Taninha) e do CT (Laureano, Primo, Nequinho, Vagner, Natalino, Tim, Kuéio) pelo apoio durante minha permanência;

Aos estagiários que participaram na condução do experimento Biribiña, Booh, Umpa, em especial ao Angolano e Tôfraco que acompanharam todas as etapas, demonstrando grande responsabilidade durante todo o projeto. Aos demais estagiários que fizeram e fazem parte do Nutribov agradeço pelos momentos em conjunto;

Ao Lucas (Parab's), Rodrigo (Rod's), Cleo e Carol, companheiros desde o início, sempre dispostos a ajudar, trocar idéias e dar boas risadas!! À Cris Sitta por ser tão prestativa, ajudar sempre ao próximo de maneira exemplar e estar presente quando precisei e não precisei; Aos demais pós-graduandos da “salinha” presentes atualmente (Vinícius, Jonas, Fernanda, Humberto) e aos que já passaram por ela!

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto e concessão de bolsa de estudo durante o curso;

À Tatiana Araújo e à empresa Church & Dwight Co. pelo fornecimento da gordura inerte utilizada no presente estudo;

Às pessoas que de maneira direta ou indireta auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho;

**... os meus sinceros agradecimentos,
OBRIGADA!**

**“Que ninguém se engane, só se consegue a simplicidade através de muito
trabalho”.**

(Clarisse Linspector)

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1 USO DA PASTAGEM PARA PRODUÇÃO DE LEITE.....	23
2.2 SUPLEMENTAÇÃO PARA VACAS EM PASTAGENS E DOSES DE CONCENTRADO.....	28
2.3 SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA PARA VACAS EM LACTAÇÃO.....	32
2.4 JUSTIFICATIVA E OBJETIVO.....	40
3 MATERIAL E MÉTODOS	
3.1 PERÍODO EXPERIMENTAL, ANIMAIS E SUPLEMENTOS.....	43
3.2 ÁREA EXPERIMENTAL, INSTALAÇÕES E MANEJO DA PASTAGEM.....	44
3.3 AMOSTRAGEM DOS ALIMENTOS.....	47
3.4 PRODUÇÃO E AMOSTRAGENS DO LEITE.....	49
3.5 COMPORTAMENTO E PESAGEM DOS ANIMAIS.....	50
3.6 DETERMINAÇÃO DO CONSUMO DE MATÉRIA SECA.....	50
3.7 COLETA DE URINA E LÍQUIDO RUMINAL.....	51
3.8 COLETA DE SANGUE.....	52
3.9 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DOS ALIMENTOS E DO LEITE.....	53
3.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	54
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA DO PASTO.....	55
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ALIMENTOS.....	57
4.3 CONSUMO DE MATÉRIA SECA.....	60
4.4 DESEMPENHO E COMPOSIÇÃO DO LEITE.....	62
4.4.1 PESO.....	63
4.4.2 PRODUÇÃO DE LEITE E PRODUÇÃO DE LEITE CORRIGIDO PARA 3,5% DE GORDURA.....	65
4.4.3 TEOR E PRODUÇÃO DE GORDURA NO LEITE.....	67
4.4.4 TEOR E PRODUÇÃO DE PROTEÍNA E CASEÍNA NO LEITE	71

4.4.5 TEOR E PRODUÇÃO DE LACTOSE NO LEITE.....	74
4.4.6 NITROGÊNIO URÉICO NO LEITE.....	75
4.4.7 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS.....	76
4.5 COMPORTAMENTO DOS ANIMAIS.....	77
4.6 PARÂMETROS RUMINAIS E SANGUÍNEOS.....	79
4.7 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS.....	84
5 CONCLUSÕES.....	93
REFERÊNCIAS.....	95

RESUMO

Doses de concentrado com ou sem gordura inerte na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais

A suplementação de vacas em pastagens tem sido estudada com a finalidade de estabelecer a melhor relação entre quantidade e fonte de suplemento e a produção e composição do leite. A adição de fontes de lipídeos aos suplementos permite aumentar a densidade energética da dieta na tentativa de atender as exigências de vacas em lactação. No presente estudo, foram testadas duas doses de suplementação energética para vacas mantidas em pastagens de capim elefante: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos e 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos com ou sem adição ($250 \text{ g.vaca}^{-1}\text{dia}^{-1}$) de gordura inerte (GI) (**1:2,5; 1:2,5G; 1:5; 1:5G**). Foram utilizadas 22 vacas mestiças Holandês x Jersey com produção inicial média de $20,9 \pm 2,22$ e 132 ± 60 dias em lactação (DEL). Os animais foram agrupados em 6 blocos de acordo com o número de lactação (primíparas ou múltiparas), DEL e produção de leite. O experimento foi delineado em blocos casualizados (dois incompletos) em arranjo fatorial 2x2, com duração de 90 dias. A suplementação com dose alta de concentrado reduziu o tempo de pastejo ($P < 0,05$) e o consumo de forragem ($P < 0,05$), aumentou a produção de leite e de sólidos do leite ($P < 0,05$), reduziu o teor de NUL ($P < 0,05$), aumentou a síntese microbiana ($P < 0,05$) e reduziu a concentração plasmática de AGNE das vacas leiteiras ($P < 0,05$). A suplementação com fonte de gordura contendo óleo de soja na forma de sabão de cálcio, quando combinada com a dose alta de concentrado, teve efeito negativo na produção de leite, no teor de gordura do leite, e na produção de sólidos do leite ($P < 0,05$). A suplementação com gordura não foi efetiva para reduzir a mobilização de gordura corporal das vacas ($P > 0,05$). Os efeitos negativos da suplementação com gordura não foram observados com a dose baixa de concentrado ($P < 0,05$). A proporção de ácidos graxos insaturados na gordura do leite foi aumentada com a suplementação de fonte de gordura ($P < 0,05$).

Palavras-chave: Forragem tropical; Nível de concentrado; Suplementação com gordura Vacas de leite em pastagens

ABSTRACT

Levels of concentrate with or without inert fat for lactating dairy cows grazing tropical pastures

Levels of supplementation for grazing cows have been studied with the objective to determine the best relationship between amount and source of supplements and milk production and composition. The inclusion of fat sources in the supplement may improve energy intake to achieve the requirements of lactating dairy cows. In this study were evaluated two levels of supplementation (1 kg of concentrate for every 2.5 or 5.0 kg of milk produced) with or without 250 g of inert fat (GI) (**1:2.5**; **1:2.5G**; **1:5**; **1:5G**) for dairy cows grazing elephant grass during the summer, for 90 days. Twenty-two cows (Holstein x Jersey) producing at the beginning of the trial 20.9 ± 2.22 kg of milk and with 132 ± 60 days in milk were used. They were assigned to randomized blocks according to number of lactation (primiparous or multiparous), days in milk and milk production. A 2x2 factorial arrangement was adopted. Feeding 1 kg of concentrate for every 2.5 kg of milk, decreased grazing time and forage intake ($P < 0,05$), increased the yield of milk and of milk solids ($P < 0,05$), decreased MUN ($P < 0,05$), increased microbial yield ($P < 0,05$) and decreased plasma NEFA ($P < 0,05$). Supplementing calcium soaps of fatty acids from soybean oil, combined with the high dose of concentrate, had negative effect on milk yield ($P < 0,05$), on milk fat content and on yield of milk solids ($P < 0,05$). Fat supplementation did not decrease plasma NEFA ($P > 0,05$). The negative effects of fat supplementation were not observed when cows were fed the low concentrate level ($P > 0,05$). The content of unsaturated fatty acids in milk fat was increased with fat supplementation ($P < 0,05$).

Keywords: Concentrate level; Fat supplementation; Grazing dairy cows; Tropical forages

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Relação entre dose de concentrado e produção de leite para vacas em pastagens.....	31
Figura 2 – Relação entre dose de concentrado e teor de gordura (direita) e dose de concentrado e teor de proteína (esquerda).....	32
Figura 3 - Área experimental dividida em 4 áreas, sendo A, B e C os piquetes de capim-elefante e a D correspondente ao local de manejo e sala de ordenha.....	45
Figura 4 – Variação do peso dos animais longo do período experimental.....	63
Figura 5 - Produção de leite (acima) e produção de leite corrigido para 3,5% de gordura (PLCG – abaixo) ao longo do período experimental.....	66
Figura 6 - Teor (% , esquerda) e produção (kg.dia^{-1} – direita) de proteína ao longo do período experimental.....	69
Figura 7 - Teor (% - esquerda) e produção (kg.dia^{-1} – direita) de proteína (acima) e caseína (abaixo) ao longo do período experimental.....	73
Figura 8 - Distribuição média das atividades dos animais ao longo de 24 horas.....	78
Figura 9 - Rotas da biohidrogenação ruminal do ácido linoléico e CLA sob condições de fermentação ruminal normal e alterada.....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Levantamento realizado nos principais periódicos brasileiros nos últimos 10 anos, considerando desempenho de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais.....	24
Tabela 2 – Valores de Proteína Bruta (PB) e Fibra Insolúvel em Detergente Neutro (FDN) em % da matéria seca (MS) em pastos de capim elefante recebendo adubação nitrogenada e coletados na forma de pastejo simulado ou extrusa de animais fistulados no esôfago.....	25
Tabela 3 – Trabalhos que avaliaram o desempenho de vacas em lactação mantidas em pastagens e suplementadas com fontes ricas em lipídeos.....	37
Tabela 4 – Descrição dos concentrados experimentais (% MS).....	44
Tabela 5 – Análise do solo da área experimental (0-20cm).....	46
Tabela 6 – Dados meteorológicos nos meses em que o experimento foi conduzido.....	47
Tabela 7 – Características estruturais e morfológicas da forragem, durante o período experimental.....	55
Tabela 8 – Análise bromatológica dos constituintes das dietas experimentais fornecidas aos animais, com base na matéria seca (MS).....	58
Tabela 9 – Frações da proteína bruta (PB) das amostras de pastejo simulado da forragem conforme proposto por Sniffen; O'Connor; Van Soest, (1992).....	59
Tabela 10 – Consumo de matéria seca de pasto (CMSp) e total (CMSt) de vacas mantidas em pastagem tropical, recebendo duas doses de concentrado com ou sem gordura inerte.....	60
Tabela 11 – Peso corporal, variação de peso, produção e composição do leite dos animais recebendo duas doses de concentrado, com ou sem gordura inerte em três períodos de avaliação.....	62
Tabela 12 – Comportamento dos animais, em minutos por dia, ao longo de 24 horas durante as três avaliações do período experimental.....	77

Tabela 13 – Parâmetros ruminais de vacas em lactação mantidas em pastagem de tropical recebendo duas doses de suplementação com ou sem gordura inerte.....	79
Tabela 14 – Parâmetros sanguíneos de vacas mantidas em pastagem tropical recebendo duas doses de concentrado, com ou sem gordura inerte.....	82
Tabela 15 – Ácidos graxos saturados (AGS, % do total de AG) presentes nos ingredientes da dieta experimental.....	84
Tabela 16 – Ácidos graxos saturados (AGS, % do total de AG) presentes no leite de vacas em lactação recebendo duas doses de concentrado com ou sem gordura inerte ao longo do período experimental.....	86
Tabela 17 – Ácidos graxos insaturados (AGI, % do total de AG) presentes nos ingredientes das dietas experimentais.....	88
Tabela 18 – Ácidos graxos insaturados (AGI, % do total de AG) presentes no leite de vacas em lactação recebendo duas doses de concentrado com ou sem gordura inerte.....	89

1 INTRODUÇÃO

Grande parte do leite produzido no Brasil é proveniente de sistemas que exploram pastagens tropicais (FAEMG, 2006). Os resultados de pesquisa e de campo têm comprovado o grande potencial de sistemas intensivos de produção que combinam pastos manejados com altas lotações e vacas especializadas suplementadas com concentrado. Esses sistemas têm permitido produções entre 4.000 a 7.000 kg de leite.vaca⁻¹.ano e 10 a 26.000 kg de leite por ha.ano⁻¹ (SANTOS et al., 2005).

Dentre os gêneros de forrageiras tropicais utilizadas no Brasil, destacam-se *Pennisetum*, *Brachiaria*, *Cynodon* e *Panicum*. Quando usadas em sistemas intensificados, permitem altas taxas de lotação animal, de 6 a 15 unidades animais (UA), com elevadas produções de leite.ha.ano⁻¹ (CORSI, 1986). Apesar de apresentarem elevado potencial de produção, ainda existe o questionamento quanto ao valor nutricional dessas forrageiras. Entretanto, o conhecimento tecnológico atual de manejo de pastagens tropicais, tem permitido associar elevada produção de forragem tropical com boa qualidade nutricional (SANTOS et al., 2011).

Os sistemas de produção animal baseados apenas na utilização de pastagens não atendem a demanda de nutrientes para altas produções individuais (MULLER e FALES, 1998; SANTOS et al., 2003; 2011). Neste sentido, suplementos concentrados podem ser utilizados para corrigir as deficiências específicas de nutrientes dos animais em pastejo, sendo estas de ordem qualitativa e quantitativa (SANTOS e JUCHEM, 2001). Quantidades diversas de concentrado têm sido estudadas para sistemas de produção de leite em pastagens, variando de 1 a 11 kg de concentrado, com produções da ordem de 8,3 a 30,6 Kg de leite vaca.dia⁻¹ (BARGO et al., 2003; SANTOS et al., 2005).

O déficit energético que ocorre no início de lactação ocasionado pela limitação na ingestão de matéria seca, resulta em mobilização de reservas corporais para disponibilizar energia para manutenção e produção de leite do animal neste período. Caso essa mobilização seja muito intensa, a incidência de distúrbios metabólicos, como o fígado gorduroso e cetose, podem aumentar, colocando em risco a saúde do animal. A suplementação com concentrados nesta fase pode minimizar a intensidade dessa mobilização (NRC, 2001; SANTOS et al., 2011). Por outro lado, vacas no terço médio de lactação precisam apresentar balanço

energético positivo para poderem recuperar a condição corporal perdida no início da lactação e a suplementação com concentrados pode contribuir para esse processo.

Por outro lado, suplementos ricos em carboidratos fermentáveis, quando fornecidos em doses altas e não misturados com a forragem para vacas em pastagens, podem desencadear distúrbios metabólicos, assim como podem prejudicar a digestão da fibra e o consumo de forragens (NRC, 2001). A inclusão de lipídeos, em substituição parcial às fontes ricas em carboidratos fermentáveis pode ser estratégia eficiente e mais segura para aumentar a densidade energética da dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais.

Apesar da ação positiva em aumentar a densidade energética da dieta, a adição de lipídeos pode causar efeitos negativos na fermentação ruminal dependendo da dose e da fonte. A fonte de gordura e sua saturação podem afetar a dinâmica dos microrganismos ruminais, prejudicando ou inibindo sua ação na degradação dos alimentos, principalmente de fontes fibrosas (PALMQUIST e MATTOS, 2006).

Os microrganismos ruminais são responsáveis pela biohidrogenação das fontes de lipídeos que contêm ácidos graxos insaturados (AGI), com o objetivo de transformá-los em saturados, anulando seus efeitos negativos. Algumas situações, como pH abaixo de 5,5 podem fazer com que o processo de biohidrogenação seja incompleto e alguns dos seus produtos intermediários, como os isômeros do ácido linoleico conjugado – CLA – cheguem à glândula mamária, inibindo a síntese da gordura do leite. Para evitar ou minimizar este processo, pode-se proceder a hidrólise de diferentes fontes de óleos combinados com Ca, formando sais de Ca, que são parcialmente ou totalmente inertes no rúmen (PEDROSO e MACEDO, 2011).

O uso dos sais de Ca na dieta de vacas confinadas de alta produção tem sido amplamente relatado na literatura (GRUMMER; HATFIELD; DENTINE, 1990; PALMIQUIST, 1991; NRC, 2001; PALMQUIST e MATTOS, 2006; HARVATINE e ALLEN, 2006; PEDROSO e MACEDO, 2011). Entretanto, as informações com vacas mantidas em pastagens tropicais são escassas. VILELA et al. (2002) relataram efeitos positivos da suplementação com gordura (sais de Ca de óleo de palma) na produção de leite, sem efeito na composição do mesmo.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho, composição do leite e parâmetros ruminais de vacas em lactação mantidas em

pastos de capim-elefante, suplementadas com duas doses de concentrado com ou sem gordura inerte.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O uso da pastagem para produção de leite

A exploração leiteira no Brasil é, em grande parte, proveniente de propriedades em que a forragem oferecida é o pasto, pelo menos em algum estágio do período produtivo. Dentre as forrageiras mais utilizadas nos sistemas de produção pelo país, as espécies de clima tropical têm destaque por apresentarem elevada produção de matéria seca (MS) e potencial para altas taxas de lotação (SANTOS et al., 2003a). Isso ocorre devido ao seu metabolismo fotossintético, que é mais eficiente na deposição de tecidos em condições de clima tropical, quando comparados a plantas de clima temperado (De ASSIS, 1997). Essa característica, se utilizada de maneira correta, torna-se ferramenta importante para otimizar a produção animal nesses sistemas.

Em levantamento realizado nos principais periódicos da literatura brasileira, foram encontrados 134 trabalhos em que o desempenho dos animais em pastagens tropicais foi, pelo menos, uma das variáveis avaliadas. Destes, cerca de 31,5% eram trabalhos com animais de raças leiteiras, puras ou cruzadas (novilhas, novilhos e vacas lactantes ou não), sendo em sua maioria conduzidos em Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*), seguidas pelas espécies Braquiária (*Brachiaria brizantha*), Coast-cross (*Cynodon dactylon*), Braquiária (*Brachiaria decumbens*) e Tanzania (*Panicum maximum*), conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 – Levantamento realizado nos principais periódicos brasileiros nos últimos 10 anos, considerando desempenho de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais

Forragem	Quantidade de trabalhos
<i>Pennisetum purpureum</i> (Elefante)	23
<i>Brachiaria brizantha</i> (Marandu)	9
<i>Cynodon dactylon</i> (Coast-cross)	7
<i>Brachiaria decumbens</i> (Braquiária)	6
<i>Panicum maximum</i> (Tanzania)	6
<i>Cynodon nlemfuensis</i> (Estrela)	3
<i>Panicum maximum</i> (Mombaça)	2
<i>Pennisetum clandestinum</i> (Kikuio)	1

Fontes pesquisadas: Revista Brasileira de Zootecnia, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia e Pesquisa Agropecuária Brasileira entre 2001 e 2011.

De maneira geral, as espécies utilizadas como pastagens tropicais não apresentam grandes diferenças quanto à sua composição bromatológica quando cultivadas na mesma área e colhidas no mesmo estágio fisiológico. Por serem altamente responsivas à adubação nitrogenada, apresentam crescimento acelerado e elevação dos seus teores proteicos (SANTOS et al., 2005). Porém, a forma de amostragens das plantas forrageiras para análises bromatológicas tem influencia direta sobre os resultados. Se a amostragem é feita da planta inteira, ou seja, com cortes próximos ao solo, os resultados normalmente mostram teores elevados de FDN (Fibra Insolúvel em Detergente Neutro) e baixos de PB (Proteína Bruta) (JOHNSON et al., 2001). Quando a amostragem é realizada simulando o pastejo realizado pelos animais, os resultados são mais próximos da composição da forragem efetivamente consumida, situação que evidencia a capacidade dos animais em selecionar as melhores partes, com teores menores de FDN e maiores de PB.

A idade da planta é outro fator que influencia negativamente sua qualidade, já que a participação da lignina aumenta na estrutura da planta com o seu avanço (NUSSIO, De CAMPOS, De LIMA, 2006). Na Tabela 2 são apresentados dados de composição química de amostras de capim elefante, coletadas na forma de pastejo simulado ou extrusa (animais fistulados no esôfago) de trabalhos com bovinos leiteiros mantidos em pastagens dessa forrageira, adubadas com nitrogênio.

Tabela 2 - Valores de Proteína Bruta (PB) e Fibra Insolúvel em Detergente Neutro (FDN) em % da matéria seca (MS) em pastos de capim elefante recebendo adubação nitrogenada e coletados na forma de pastejo simulado ou extrusa de animais fistulados no esôfago

Cultivar	PB, %MS	FDN, %MS	Fonte
<i>Pennisetum purpureum</i>	14,8	66,8	Deresz; Lopes; Aroeira (2001)
<i>Pennisetum purpureum</i>	----	71,9	Aroeira et al. (2001)
<i>Pennisetum purpureum</i>	14,8	70,7	Deresz et al. (2003)
<i>Pennisetum purpureum</i>	12,1	72,4	Lopes et al. (2004)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Guaçu *	12,5	76,3	Lima et al. (2004)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	----	66,6	Soares et al. (2001)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	12,7	71,8	Deresz (2001a)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	12,1	72,2	Deresz (2001b)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	11,8	63,6	Peres et al. (2005)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	20,6	64,7	Fontanelli (2005)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	13,6	69,1	Deresz et al. (2006)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	16,3	63,6	Domingues et al. (2008)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	13,9	70,2	Paciullo et al. (2008)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Napier	11,2	71,1	Lista et al. (2008)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	14,6	65,1	Voltolini (2006)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	20,6	63,2	Carareto (2007)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	17,6	64,4	Romero (2008)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	18,5	61,4	Martinez (2008)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	14,7	63,9	Martinez (2008)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	17,1	60,1	Martinez (2008)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	18,5	58,7	Danés (2010)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	14,4	66,0	Voltolini et al. (2010)
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cameroon	15,5	56,7	Chagas (2011)

* Valores referentes às folhas.

Trabalhos com o cv Cameroon foram conduzidos no departamento de Zootecnia da USP/ESALQ.

Apesar dos benefícios da adubação nitrogenada já mencionados, existe um aspecto negativo associado ao crescimento acelerado, que é o envelhecimento mais rápido e, com isso, maior participação de componentes indesejados, como a lignina (BALSABORE, 2002). A lignina não é digerida pelos microrganismos ruminais nem pelo ruminante, e, além disso, pode se associar a outras frações importantes, como os carboidratos fibrosos, reduzindo sua digestibilidade (NUSSIO, De CAMPOS, De LIMA, 2006). Neste cenário, a colheita do pasto no ponto ideal passa a ser fator decisivo no que tange a qualidade do material oferecido ao animal, principalmente quando se utilizam ferramentas como a adubação nitrogenada.

Com base em trabalhos conduzidos com plantas tropicais na última década, tem se preconizado a entrada dos animais no pasto com base no nível de interceptação luminosa (IL) do dossel forrageiro, no caso IL de 95%. Este ponto apresenta sólida correlação com a altura do dossel. No início da rebrota da pastagem logo após o pastejo, há pouca competição por luz e o acúmulo é principalmente de folhas (aparecimento e alongação), com pouco crescimento dos colmos e com baixa taxa de senescência das folhas. No momento em que a IL atinge 95%, as folhas começam a se sobrepor e sombrear umas as outras e a competição por luz torna-se mais evidente. A partir deste momento, as plantas passam a alongar o colmo para que as novas folhas fiquem acima das demais e as folhas mais velhas que estão próximas ao solo iniciam o processo de morte e decomposição. Nesta fase, o acúmulo de colmo e material morto é maior que o acúmulo de folhas, refletindo no material disponível ao consumo do animal, que apresentará menores proporções de folhas (Da SILVA, 2009). Em termos práticos, tem sido demonstrado que o ponto de 95% de IL pode ser obtido através de medidas de altura, sendo que para cada espécie há uma recomendação de altura para entrada e saída dos animais (Da SILVA e CORSI, 2003). Em trabalhos onde foi avaliada a produção de leite de vacas mantidas em pastagens de capim-mombaça (HACK, 2004) e capim-elefante (VOLTOLINI, 2006; CARARETO, 2007) manejadas com 95% de IL (o que corresponde a 90 cm para o capim-mombaça e 100 cm para o capim-elefante), obteve-se aumento na produção de leite em comparação com os animais mantidos em pastos manejados com intervalo de desfolha fixo, além da possibilidade de aumentos na taxa de lotação. Dessa forma, é possível aliar alta produção de forragem com elevado valor nutricional, devido à maior participação de folhas, com resultados expressivos na produção animal.

A principal limitação para altas produções individuais de vacas em pastagens é o consumo voluntário de MS de forragem pelo animal (SANTOS et al., 2005).

Durante muito tempo foi considerado que o principal mecanismo regulador do consumo de forragem de ruminantes em pastagens era a capacidade de enchimento do rúmen (SILVA, 2006). Porém, estudos mais recentes têm demonstrado que a ingestão está relacionada com uma série de mecanismos que agem de forma integrada e que abrangem condições ambientais, fatores inerentes ao metabolismo do animal e o equilíbrio energético. Portanto, o comportamento ingestivo e consumo voluntário são resultados da integração de vários sinais relacionados ao ambiente, a forma com que o alimento é oferecido e o estado fisiológico do animal (INGVARTSEN e ANDERSEN, 2000).

Algumas características comportamentais regidas pelo Sistema Nervoso Central (SNC) dão início ao processo de alimentação, através dos sentidos dos animais (visão, odor, sabor e textura – INGVARTSEN e ANDERSEN, 2000; SILVA, 2006). Este processo é seguido pela digestão e metabolismo dos nutrientes. Neste contexto, o consumo pode ser regulado por mecanismos comportamentais, físicos, metabólicos e neuro-hormonais e ingestão de água (SILVA, 2006). Animais mantidos em pastagens devem receber atenção especialmente no que tange aos efeitos físicos e comportamentais (REIS e Da SILVA, 2006).

A saciedade física, também chamada de efeito de enchimento, ocorre em função do grau de distensão do trato digestório, em especial do rúmen-retículo (RR), causada pelo volume e peso da digesta. O volume depende da quantidade de alimento consumido e das taxas de digestão e de passagem (NRC, 1987; ALLEN, 2000; REIS e Da SILVA, 2006; SILVA, 2006). A FDN foi apontada por alguns autores como o componente que apresenta correlação mais consistente com a ingestão de matéria seca (Van SOEST, 1965; Waldo, 1986; MERTENS, 1992; ALLEN, 2000). Assim, com o aumento da FDN na dieta, o efeito de enchimento passa a prejudicar o consumo; enquanto que com sua diminuição, o consumo passa a ser limitado pelo atendimento da exigência energética do animal.

O consumo de forragem em condições de pastejo também é função de variáveis associadas ao comportamento ingestivo do animal que, de acordo com Allden e Whittaker (1970), são: tempo de pastejo, taxa de bocado e massa de bocado. O tempo de pastejo engloba o tempo de locomoção do animal para encontrar bocados potenciais, sua facilidade de colheita e o tempo de manipulação

para formação e deglutição do bolo alimentar. A taxa de bocado descreve a quantidade de bocados feita durante um período de tempo, ou seja, a velocidade de ingestão. A massa ou tamanho do bocado refere-se à quantidade de forragem ingerida em cada bocado (REIS e Da SILVA, 2006). Qualquer variação em alguma dessas variáveis influenciará a ingestão diária.

A altura correspondente aos 95% de IL é a variável da estrutura do dossel que possui relação mais consistente com as variáveis comportamentais. A sua modificação resultará em adaptações dos animais, a fim de regular e manter a ingestão necessária. Como exemplo, em uma situação de baixa oferta de forragem, a massa do bocado será menor e, para compensar a queda no consumo, o animal aumenta a taxa de bocado e o tempo de pastejo (REIS e Da SILVA, 2006).

Na compilação realizada por Santos et al.(2003), foi constatado que o CMS de vacas mantidas em pastagens tropicais variou de 6,3 a 14,8 kg de MS vaca.dia⁻¹, ou média de 2,37% do PV (Peso Vivo). Essa variação pode ser explicada por fatores relacionados ao animal e a diferentes práticas de manejo das pastagens. Com base nessas informações, os animais mantidos exclusivamente em pastagens tropicais não teriam energia para produções além de 14 kg de leite.dia⁻¹ (NRC, 2001; SANTOS et al., 2005).

2.2. Suplementação para vacas em pastagens e doses de concentrado

O manejo adequado das pastagens possibilita a colheita de material forrageiro de alta qualidade. Porém, animais mantidos exclusivamente em pastagens, mesmo sendo bem manejadas, não expressam seu potencial de produção em virtude de restrições, como a baixa capacidade de CMS e o desbalanço nutricional em sua composição. O uso da suplementação com concentrado nessas condições torna-se ferramenta essencial para suprir os nutrientes em escassez, possibilitando o aumento da produtividade dos sistemas de produção de leite em pastagens manejadas intensivamente (DAVISON et al., 1990).

As gramíneas tropicais contêm de 3 a 21 % de carboidratos não fibrosos (CNF) na MS. Estes baixos teores de CNF certamente limitam o uso de boa parte da fração da PB que é degradável no rúmen (PDR) dessas forragens (NRC, 2001), principalmente quando os pastos são fertilizados com doses altas de N e contêm teores elevados de PB.

De acordo com o NRC (2001), uma vaca de 500 kg de peso corporal, aos 150 dias de lactação, produzindo 20 kg de leite com 3,8% de gordura e 3,3 de proteína bruta e consumindo 12 kg de MS (2,4% do PC) de forragem (18,6% de PB e 60,22% de NDT), ingere energia para produzir 10,5 kg de leite e proteína metabolizável para produzir 17,5 kg de leite e balanço positivo de PDR. Analisando estes dados, vacas mantidas em pastos tropicais fertilizados com N e colhidos no estágio fisiológico recomendado, têm sua produção de leite limitada primeiramente por energia e não por proteína. Dependendo do teor de PB da pastagem, produções ao redor de 23 a 25 kg.dia⁻¹, podem ser obtidas com suplementação exclusiva de fonte energética como o milho (FONTANELI, 2005; DANÉS, 2010; CHAGAS, 2011). Esta realidade indica a possibilidade de redução de custo na suplementação concentrada de vacas em lactação, através da utilização de suplementos energéticos, minimizando e, muitas vezes, dispensando a utilização de suplementos protéicos, de custo mais elevado (DELGADO e RANDEL, 1989).

Considerando que a disponibilidade ruminal de energia e N afetam diretamente a síntese de proteína microbiana no rúmen (CLARK et. al., 1992), sendo a ingestão de energia o principal fator limitante para produção de leite em pastagens de gramíneas tropicais adubadas com nitrogênio, maior ênfase deve ser dada à suplementação energética (VERBIC, 2002).

Para suprir os nutrientes em escassez desses animais mantidos em pastagens, deve ser fornecida mistura concentrada, que terá como objetivos: 1) aumentar o CMS total e de nutrientes; 2) aumentar a produção de leite por animal; 3) aumentar a taxa de lotação e a produção de leite por hectare; 4) melhorar o ganho de peso e a condição de escore corporal das vacas (REIS e SOUSA, 2008). Ao fornecer esse suplemento ocorre o efeito de substituição (ES) com diminuição do CMS de pasto. Este efeito é quantificado através da taxa de substituição (kg de MS de pasto / kg de MS de suplemento) (BARGO et al., 2003).

Algumas teorias tentam explicar as causas deste efeito: 1) efeitos associativos, como interação entre a digestão do concentrado e do pasto, reduzindo a digestão da fibra por causar queda no pH ruminal e diminuição da atividade ou no número de bactérias celulolíticas. Isso reduz a taxa de digestão da fibra e, conseqüentemente, o CMS de pasto (DIXON e STOCKDALE, 1999, citado por BARGO et al., 2003); 2) a relação negativa entre o CMS de concentrado e o tempo de pastejo, sendo que os animais que recebem suplemento diminuem seu tempo de

pastejo, resultando em menor CMS de pasto. (MAYNE e WRIGHT, 1988; McGILLOWAY and MAYNE, 1996, citados por BARGO et al., 2003); 3) o consumo de energia, que pode ser fator determinante, pois com a oferta do suplemento, a vaca passa a substituir o alimento com menor disponibilidade de energia, no caso o pasto, para suprir suas necessidades energéticas com o suplemento (REIS e SOUSA, 2008).

A conclusão obtida pela compilação realizada por Bargo et al. (2003) foi que houve correlação negativa entre o fornecimento de suplemento e CMS do pasto, com queda de 13% no CMS do pasto. Porém, o CMS total foi correlacionado positivamente com a suplementação sendo 24% maior para animais recebendo suplementação. Outros autores também verificaram diminuição no consumo de pasto com o aumento na inclusão de concentrado (ALVIM; VILELA; LOPES, 1997; WALES et al., 2009).

A quantidade de suplemento oferecida tem influência na produção de leite, conforme demonstrado em revisão de Bargo et al., (2003). A produção de leite apresentou correlação positiva com o fornecimento de suplemento, aumentando em 22%. Em pastagens de clima temperado, vacas no início da lactação tiveram produção variando de 28,3 a 45,8 kg de leite.dia⁻¹ e consumo de 0 a 10 kg de concentrado vaca.dia⁻¹. Vacas em estágio mais avançado de lactação tiveram produção de 19,4 a 22,3 kg de leite por vaca.dia⁻¹ consumindo de 0 a 10,4 kg de concentrado vaca.dia⁻¹, mostrando menor amplitude no aumento na produção. O direcionamento dos nutrientes foi usado como explicação pelos autores, em que no início da lactação as vacas direcionam os nutrientes disponíveis, seja da dieta ou da mobilização corporal, para a produção, enquanto que quando em estágio mais avançado, direcionam para o ganho de peso e de condição corporal.

A produção de leite em pastagens de clima tropical foi estudada com diferentes fontes e doses de suplemento, com fornecimento variando de 1 a 11 kg.vaca.dia⁻¹ e produções de 8,3 a 30,6 Kg de leite vaca⁻¹ dia⁻¹ (VILELA et al., 1996; ALVIM; VILELA; LOPES, 1997; AROEIRA et al., 1999; TEIXEIRA; VALENTE; VERNEQUE, 1999). A Figura 1 é o resultado da compilação realizada por Santos et al. (2010) em que foram consideradas vacas Holandesas ou cruzadas (HPB x Jersey) mantidas em pastagens de clima tropical.

Figura 1 - Relação entre doses de concentrado e produção de leite para vacas em pastagens (SANTOS et al., 2010)

De acordo com os dados da revisão, o fornecimento 6,45 kg de concentrado para esse tipo de animal, mantidos em pastagens tropicais com 64,6% de FDN e 16% de PB resultou na produção média de 17,94 kg de leite com 3,48% de gordura durante o terço médio de lactação.

Os efeitos da suplementação na composição do leite também foram estudados por Bargo et al. (2003). O teor de gordura apresentou correlação negativa, com queda de 6% com suplemento, mas a produção de gordura apresentou correlação positiva e foi aumentada em 13%. O teor e produção de proteína apresentaram correlação positiva com o uso do suplemento, aumentados em 4% e 30% respectivamente. A revisão de Santos et al., (2010) mostrou redução mínima nos teores de gordura com doses crescentes de concentrado, enquanto que os teores de proteína foram aumentados para vacas mantidas em pastagens de clima tropical (Figura 2). As explicações para queda nos teores de gordura estão relacionadas à diminuição no CMS de pasto e provável queda no pH do ambiente ruminal. Já para os aumentos nos teores de proteína, a explicação relaciona-se com o aumento na energia e aminoácidos disponíveis para a glândula mamária.

Figura 2 - Relação entre doses de concentrado e gordura (esquerda) e doses de concentrado e proteína (direita) (SANTOS et al., 2010)

2.3. Suplementação lipídica para vacas em lactação

Vacas no início de lactação têm limitação na ingestão de matéria seca e, por este ser um período de grande necessidade de nutrientes, apresentam balanço energético negativo (NRC, 2001; PEDROSO e MACEDO, 2011). Nessa fase da lactação há considerável mobilização de reservas corporais para suprir suas demandas energéticas para manutenção e produção de leite. Se essa mobilização for muito intensa a incidência de distúrbios metabólicos, como o fígado gorduroso e cetose pode aumentar, colocando em risco a saúde do animal.

Quando esses animais são mantidos em pastagens, o problema pode ser agravado, já que neste caso o CMS será menor por conta das limitações impostas nesse sistema de produção ao consumo de forragem. Além disso, não há controle efetivo na ingestão de nutrientes quando comparado a sistemas de confinamento em que a dieta é fornecida na forma de ração totalmente misturada e o controle do CMS é mais preciso.

O uso de suplementos nesta fase é importante para aumentar o pico de produção de leite e sem que haja mobilização excessiva de reservas corporais. Porém, se utilizado suplemento rico em CNF em quantidade excessiva, este poderá desencadear distúrbios metabólicos, como a acidose, ou afetar a digestão da fibra e o CMS total (NRC, 2001). Para contornar esta situação, tem sido proposto o aumento na densidade calórica via inclusão de lipídeos no suplemento (PEDROSO e MACEDO, 2011). Já para vacas em pastagens no terço médio de lactação a suplementação com lipídeos pode ter efeito positivo na produção de leite e na recuperação da condição corporal das vacas (VILELA et al., 2002).

Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas para avaliar o uso de lipídeos na dieta de vacas em lactação para atender suas exigências energéticas, sem prejudicar o CMS e a fermentação ruminal. As fontes de lipídeos mais estudadas são as de origem vegetal, como os grãos e óleo de soja, de palma e linhaça; as de origem animal, como o sebo e o óleo de peixe, embora não seja permitido o uso no Brasil; e os sais de Ca, que são, comumente chamados “gordura protegida” da degradação ruminal ou gordura inerte (GI), por possuírem a característica de não interferir, ou interferir em menor proporção, na atividade microbiana ruminal, ou seja, são inertes no rúmen (PALMQUIST e MATTOS, 2006).

Apesar da ação positiva em aumentar a densidade energética da dieta, a adição de lipídeos pode causar efeitos negativos na fermentação ruminal, quando acima de 7% da MS (PALMQUIST e MATTOS, 2006). Se a fonte de lipídeos for rica em ácidos graxos poliinsaturados, a degradação de carboidratos estruturais pode ser reduzida drasticamente, em até mais de 50%, mesmo que a dieta contenha menos de 10% de gordura suplementar (JENKINS, 1993). O efeito negativo da redução na digestão de fibra é acompanhado pela menor produção de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente acetato, tendo como único aspecto positivo a diminuição na produção de metano e hidrogênio. (IKWUEGBU e SUTTON, 1982; JENKINS e PALMQUIST, 1984, citados por JENKINS, 1993). Nos trabalhos revisados por Jenkins (1993) foi observado que a redução na produção de acetato pode ser atribuída a algumas características dos ácidos graxos suplementares, como o grau de insaturação, uma vez que os insaturados são mais eficientes em inibir a ação das bactérias que degradam carboidratos estruturais; além disso, a presença de um grupo carboxílico livre, como ocorre em ácidos graxos livres, também possui ação inibitória.

Para contornar a ação inibitória dos ácidos graxos insaturados e ácidos graxos livres, os microrganismos ruminais realizam o processo de biohidrogenação. De maneira geral, a biohidrogenação envolve a conversão dos ácidos graxos insaturados (AGI) a saturados (AGS) através de diversos processos de isomerização e hidrogenação, em diferentes vias e mecanismos, que dependerão do ambiente ruminal e da população microbiana (HARVATINE e BAUMAN, 2007). Quando o ambiente ruminal tem seu pH próximo ao neutro, os AGS formados reagem com íons de Ca presentes no ambiente ruminal, formando os sais de Ca, que são inertes no rúmen e não prejudicam a ação dos microrganismos ruminais, principalmente

quanto à digestão da fibra. De acordo com Palmquist e Mattos (2006), trata-se de um mecanismo de defesa, principalmente das bactérias gram +, metanogênicas e protozoários quando na presença de ácidos graxos livres, insaturados e poliinsaturados.

Os produtos finais gerados, através das diferentes rotas e mecanismos da biohidrogenação, são o ácido graxo esteárico (C18:0) e o palmítico (C16:0), ambos sem insaturações. Altas concentrações de ácidos graxos livres insaturados e poliinsaturados no ambiente ruminal podem resultar em um processo incompleto, sendo a última etapa interrompida e o produto final passa a ser um de seus intermediários, como o ácido rumênico (*cis*-9 *trans*-11 C18:2) e o ácido vaccênico (*trans*-11 C18:1), acumulando-os no rúmen. Outro fator que influencia na interrupção do processo e na formação de metabólitos intermediários é o baixo pH, que, associado à alta concentração de AGI, formarão intermediários *trans*-10 ao invés de *trans*-11 (JENKINS, 1993; PALMQUIST e MATTOS, 2006).

O crescente interesse na presença do ácido rumênico, também conhecido por CLA (Ácido Linoléico Conjugado), nos alimentos de origem animal se deve aos benefícios ao organismo humano, como inibição da carcinogênese e diabete, conforme tem sido comprovado em animais de laboratório. O CLA é um produto intermediário da biohidrogenação do ácido linoléico e linolênico e possui diversos isômeros, como o *cis*-9, *trans*-11 (conhecido por sua ação anticarcinogênica) e o *trans*-10, *cis*-12, (conhecido por sua ação no metabolismo de lipídeos) (HARVATINE e BAUMAN, 2007).

Kim e colaboradores (2000) relataram que a presença de determinadas bactérias no ambiente ruminal são importantes na produção e acúmulo de CLA no rúmen, em especial a *Butyrivibrio fibrisolvens*, uma bactéria celulolítica. Este grupo de bactérias sintetiza enzimas que atuam no processo de biohidrogenação do linoléico e a inibição destas bactérias, como em condições de baixo pH ou dietas com baixo teor de fibra, terá como consequência maior produção de CLA.

Alguns metabólitos intermediários que seguem adiante no trato gastrointestinal têm sido apontados como fatores de inibição da síntese de ácidos graxos na glândula mamária, diminuindo, então, a gordura do leite. O primeiro a ser reconhecido foi o CLA *trans*-10, *cis*-12 (BAUMGARD et al., 2000) e recentemente foram reconhecidos o CLA *tran*-9, *cis*-11 e o CLA *cis*-10, *trans*-12 (BAUMAN et al., 2006). Apesar de esforços para aumentar a presença de CLA no leite, através da

suplementação com sais de Ca de CLA, a biohidrogenação incompleta destes pode gerar os isômeros citados acima, resultando em depressão da gordura do leite.

Estudos têm comprovado que a minoria do CLA presente no leite é proveniente da biohidrogenação ruminal e que a maioria é sintetizado na glândula mamária, a partir dos intermediários que lá chegam, como ácido vaccênico, juntamente com ação do complexo enzimático denominado Δ -9 dessaturase (TROEGELER-MEYNADIER et al., 2003; ABUGHAZALEH; FELTON; IBRAHIM, 2007; HARVATINE e BAUMAN, 2007). Além disso, estudos comparando sistemas de produção de vacas confinadas recebendo silagens ou em pasto têm apontado depressão na gordura do leite para as vacas em pastagens, já que estas são ricas em ácido linolênico (WHITE et al., 2001; COUVREUR et al., 2007).

Para vacas mantidas em pastagens, o uso de gordura inerte (GI) na suplementação pode ser ferramenta útil para promover o incremento na ingestão de energia, sem prejuízos na degradação ruminal da forragem. Nos estudos revisados por Bargo et al. (2003) foi sugerida a possibilidade de efeito aditivo do uso de lipídeos inertes no rúmen quando a dieta é constituída principalmente por forragem, resultando em aumentos na produção da gordura do leite.

Alguns sais de Ca estão disponíveis comercialmente e são produtos obtidos a partir da hidrólise de diferentes óleos vegetais (palma, soja, entre outros) e posterior combinação com cálcio (Ca), formando sais e elevando o ponto de fusão do produto final (LOFTEN e CORNELIUS, 2004). Alguns sais de Ca são estáveis no rúmen em pH de até 6,5, outros se dissociam com maior facilidade. Assim, os ácidos graxos presentes nos sais de Ca devem ser dissociados apenas em ambiente muito ácido, como no abomaso, e absorvidos no trato posterior.

Sukhija e Palmquist (1990) mostraram que a estabilidade dos sais de Ca no rúmen depende diretamente da fonte de ácidos graxos e do seu grau de insaturação, sendo que quanto mais insaturados forem, menor será a estabilidade dos produtos no ambiente ruminal. Os Sais de Ca à base de óleo de palma, mostraram-se estáveis mesmo em pH de 5,5, enquanto o produto à base de óleo de soja se dissociou a partir de pH 6,5.

As gorduras inertes comerciais disponíveis no Brasil são, em sua maioria, produzidas com ácidos graxos provenientes da soja e da palma, independentes ou combinados. A soja contém cerca de 16,1% de AGS e 83,9% AGI, enquanto a palma contém cerca de 47,5% de AGS e 52,5% de AGI (PALMQUIST e MATTOS,

2006), portanto fica evidente que produtos com os ácidos graxos da soja apresentam características menos desejáveis que os sabões derivados do óleo de palma (PALMQUIST e MATTOS, 2006).

Apesar do discutido acima, os produtos a base de óleo de soja têm apresentado efeitos positivos na reprodução de bovinos, como apresentado em revisão de Sartori e Guardieiro (2010). Isso foi atribuído à maior presença de ácido linoléico ou ômega 6, precursor do ácido aracdônico, ácido graxo essencial que é precursor da família da prostaglandina 2α , hormônio essencial para a reprodução.

Na literatura consultada foram encontrados alguns trabalhos onde foi avaliado o desempenho de vacas em lactação mantidas em pastagens recebendo suplementação lipídica, seja na forma de sais de Ca ou outras formas, como óleo ou sementes de oleaginosas. Dentre os que usaram sais de Ca, a grande maioria utilizou produtos à base de óleo de palma, espécies de pastagens de clima temperado e animais da raça Holandesa (Tabela 3).

Tabela 3 - Trabalhos que avaliaram o desempenho de vacas em lactação mantidas em pastagens e suplementadas com fontes ricas em lipídeos

Item	Tratamentos				Referência
	1	2	3	4	
Leite, kg.dia ⁻¹	25,6	26,9	27,2	-	SCHROEDER et al. (2002). 1: Controle 2: 0,5 kg.dia ⁻¹ OPH; 3: 1,0 kg.dia ⁻¹ OPH.
Gord., %	3,44b	3,51b	3,78b	-	
Gord., kg.dia ⁻¹	0,87b	0,93ab	1,03 ^a	-	
Prot., %	3,24	3,32	3,18	-	
Prot., kg.dia ⁻¹	0,83	0,87	0,86	-	
Leite, kg.dia ⁻¹	15,7b	17,5a	-	-	VILELA et al. (2002). 1: Controle; 2: Com GI (palma + soja).
Gord., %	4,3	4,3	-	-	
Gord., kg.dia ⁻¹	-	-	-	-	
Prot., %	3,1	3,0	-	-	
Prot., kg.dia ⁻¹	-	-	-	-	
Leite, kg.dia ⁻¹	20,2	19,2	20,2	-	SCHROEDER et al. (2003). 1: RTM 2: Pasto + Milho; 3: Pasto +Milho e GI (AGI)
Gord., %	3,91a	3,45b	2,56c	-	
Gord., kg.dia ⁻¹	0,76a	0,67b	0,52c	-	
Prot., %	3,70a	3,49b	3,41b	-	
Prot., kg.dia ⁻¹	0,75	0,67	0,70	-	
Leite, kg.dia ⁻¹	23,7 b	25,0a	-	-	SALADO et al. (2004). 1: Controle; 2: Óleo hidrogenado
Gord., %	3,64b	3,86a	-	-	
Gord., kg.dia ⁻¹	0,86b	0,97a	-	-	
Prot., %	3,12	3,14	-	-	
Prot., kg.dia ⁻¹	0,74b	0,78a	-	-	
Leite, kg.dia ⁻¹	36,4	35,7	-	-	BOKEN et al. (2005). 1: Controle; 2: Co-produto do óleo de soja refinado.
Gord., %	3,27	3,05	-	-	
Gord., kg.dia ⁻¹	1,2	1,1	-	-	
Prot., %	2,88	2,91	-	-	
Prot., kg.dia ⁻¹	1,0	1,0	-	-	

Tabela 3 - Trabalhos que avaliaram o desempenho de vacas em lactação mantidas em pastagens e suplementadas com fontes ricas em lipídeos
.....continua

Leite, kg.dia ⁻¹	23,1a	19,6b	-	-	ABUGHAZALEH; FELTON;
Gord., g.kg ⁻¹	2,51	2,95	-	-	IBRAHIM et al. (2007)
Gord., kg.dia ⁻¹	0,57	0,51	-	-	1: RTM + óleo peixe e girassol;
Prot., g.kg ⁻¹	4,45	4,51	-	-	2: Pasto + óleo de peixe e girassol.
Prot., kg.dia ⁻¹	0,75a	0,61b	-	-	
Leite, kg.dia ⁻¹	15,7*	15,4*	11,5*	11,9*	KAY et al. (2007).
Gord., %	4,44**	2,52**	4,94**	2,57**	1: Pasto <i>ad libitum</i> sem CLA;
Gord., kg.dia ⁻¹	0,69**	0,39**	0,56**	0,30**	2: Pasto <i>ad libitum</i> com CLA;
Prot., %	3,31**	3,55**	3,20**	3,36**	3: Pasto restrito sem CLA;
Prot., kg.dia ⁻¹	0,52**	0,55**	0,37**	0,40**	4: Pasto restrito com CLA.
Leite, kg.dia ⁻¹	22,2	21,9	22,0	22,2	REGO et al. (2009).
Gord., %	3,75a	3,33b	3,27b	3,59a	1: Controle;
Gord., kg.dia ⁻¹	0,82a	0,72b	0,70b	0,78a	2: Óleo de colza;
Prot., %	3,51	3,45	3,45	3,43	3: Óleo de girassol;
Prot., kg.dia ⁻¹	0,78	0,75	0,75	0,76	4: Óleo de linhaça.
Leite, kg.dia ⁻¹	15,2b#	16,3a#	-	-	MEDEIROS et al. (2010).
Gord., %	2,90a	2,14b	-	-	1: Sais de Ca óleo de palma;
Gord., kg.dia ⁻¹	0,44a	0,35b	-	-	2: Sais de Ca óleo de palma com CLA
Prot., %	2,79b	3,11a	-	-	
Prot., kg.dia ⁻¹	0,42b	0,50a	-	-	

Gord: Gordura; Prot: Proteína; OPH: Óleo parcialmente hidrogenado; GI: Gordura inerte; RTM: Ração totalmente misturada; AGI: Ácidos graxos insaturados,

* Efeito significativo para disponibilidade de forragem; ** Efeito significativo para disponibilidade de forragem e inclusão de CLA.

#: P = 0,06.

Dos trabalhos contidos na Tabela 3, apenas dois foram conduzidos em condições brasileiras, com pastagens tropicais e vacas HPB (VILELA et al., 2002) e com vacas Holandês x Zebu (MEDEIROS et al., 2010). Nestes trabalhos, a GI utilizada era proveniente do óleo de palma.

Para produção de leite, dos nove trabalhos apresentados na Tabela 3, em sete deles, o tratamento controle não continha fonte de gordura suplementar. Em cinco desses estudos não houve diferença estatística para a inclusão de gordura na

dieta (SCHROEDER et al., 2002, 2003; BOKEN et al., 2005; KAY et al., 2007; REGO et al., 2009). Destes cinco, dois utilizaram sais de Ca (SCHROEDER et al., 2003; BOKEN et al., 2005) e o restante óleo. Nos outros dois dos sete estudos, a adição de gordura suplementar aumentou a produção de leite (VILELA et al., 2002; SALADO et al., 2004). De acordo com o NRC (2001) o uso de lipídeos na dieta de vacas em lactação tem gerado resultados variáveis, com aumentos e quedas na produção de leite, apontando diversas causas para essas variações. A depressão no CMS pode ser uma das causas, uma vez que os suplementos contendo ácidos graxos insaturados causam maior depressão do que os com ácidos graxos saturados. Se a redução no CMS não alterar a ingestão de energia, a produção pode não ser alterada, e até mesmo, aumentada.

Os teores e as produções de gordura do leite foram afetados pela suplementação com lipídeos de formas variáveis. A suplementação com fontes de óleo parcial ou totalmente hidrogenadas aumentou o teor e a produção de gordura do leite (SCHROEDER et al., 2002; SALADO et al., 2003). As suplementações com AGI (SCHROEDER et al., 2003), com óleo de colza ou com óleo de girassol (REGO et al., 2009) e com CLA (KAY et al., 2007; MEDEIROS et al., 2010) reduziram o teor e a produção de gordura do leite.

Nos trabalhos citados no NRC (2001) observa-se que os resultados são inconsistentes com efeitos negativos e positivos nos teores e produções de gordura do leite. Essas variações são dependentes da fonte e da quantidade oferecida, ressaltando que quantidades excessivas de ácidos graxos insaturados poderão resultar em processos incompletos de biohidrogenação, gerando metabólitos intermediários que inibem a *síntese de novo* de gordura na glândula mamária. Nos trabalhos citados na Tabela 3, as fontes utilizadas nos trabalhos com queda na gordura do leite eram de ácidos graxos insaturados, na forma de óleo ou sais de Ca, reforçando a teoria da depressão da síntese de gordura. Os aumentos na gordura dos trabalhos aqui apresentados, estão relacionados ao uso de ácidos graxos hidrogenados (SCHROEDER et al., 2003; SALADO et al., 2004).

Os teores de proteína do leite foram pouco afetados pela suplementação com gordura para vacas em pastagens. Na maioria dos trabalhos apresentados não houve efeito da inclusão gordura na dieta nos teores de proteína do leite (VILELA et al., 2002; SCHROEDER et al., 2002; SALADO et al., 2004; BOKEN et al., 2005; ABUGHAZALEH; FELTON; IBRAHIM et al, 2007.; REGO et al., 2009) e houve efeito

positivo com a inclusão de CLA na dieta (KAY et al., 2007; MEDEIROS et al., 2010). De acordo com o NRC (2001) e Bargo et al. (2003) o uso de lipídeos na dieta resultou em ligeira queda no teor de proteína. De acordo com Wu e Huber (2004) a redução no teor de proteína do leite pode ocorrer em virtude do aumento na produção de leite sem o aumento correspondente no fluxo de aminoácidos essenciais para a glândula mamária.

O efeito positivo da suplementação com CLA (KAY et al., 2007; MEDEIROS et al., 2010) no teor de proteína do leite pode estar relacionado com a maior disponibilidade de energia para a síntese de proteína, já que houve queda no teor e na produção de gordura do leite.

Efeito positivo residual da suplementação com fonte de lipídeo foi constatado por Vilela et al. (2002) que suplementaram vacas mantidas em pastagens de capim coast-cross com gordura inerte (saís de Ca misto de óleo de palma e soja) nos primeiros 90 dias de lactação e verificaram aumento na persistência, no pico e na lactação total, quando comparadas a vacas sem adição de gordura protegida, mas não houve mudanças nos teores de gordura, sólidos totais e proteína do leite. Isso mostra que pode haver benefício residual no fornecimento de gordura protegida no início da lactação, tanto para minimizar o balanço energético negativo, quanto para aumentar a produção e a persistência da lactação e para melhorar os parâmetros reprodutivos.

Salado et al. (2004) não observaram efeito residual quando suplementaram vacas em pastagens nos primeiros 75 dias de lactação. Da mesma forma, Medeiros et al. (2010) não constaram efeito residual na produção de leite e persistência da lactação após o fornecimento de GI dos 28 a 84 dias em lactação, avaliando dos 85 aos 112 dias subsequentes.

2.4. Justificativa e objetivo

Em pastagens tropicais bem manejadas, fertilizadas com doses altas de N e com teores elevados de PB, o principal fator limitante à produção de leite é ingestão de energia, causada por limitações impostas na colheita da forragem ou pelo efeito de enchimento ruminal. O uso de lipídeos para vacas em lactação é pode se constituir em estratégia para aumentar a ingestão de energia de animais mantidos em pastagens tropicais, sem aumentar a quantidade ingerida de CNF, reduzindo riscos de acidose ruminal.

O objetivo do projeto foi avaliar os efeitos da suplementação com concentrado em dois níveis (1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos e 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos) com uso ou não de gordura inerte no rúmen (produto comercial produzido com óleo de soja, Megalac – E[®]) no concentrado de vacas em lactação mantidas em pastagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) durante o período das águas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida nas instalações do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, em Piracicaba, SP.

3.1 Período experimental, animais e suplementos

A fase pré-experimental utilizada para adaptação dos animais ao manejo teve início em novembro de 2010. O período experimental teve início em 23 de dezembro de 2010 e término em 26 de abril de 2011. Foram utilizadas 24 vacas, sendo 8 primíparas e 16 multíparas, mestiças Holandês x Jersey provenientes do rebanho da ESALQ/USP. Duas vacas multíparas foram removidas do experimento após 30 dias, em virtude de problema de casco e tristeza bovina, sendo o estudo concluído com 22 animais. As 22 vacas experimentais foram manejadas em conjunto com outras 10 vacas do rebanho, totalizando 32 vacas no lote, com o objetivo de possibilitar manejo adequado dos pastos.

Durante os últimos 15 dias do período pré-experimental, as vacas receberam 9 kg.dia^{-1} do mesmo concentrado, divididos em duas refeições diárias (3:30 e 14:30). A partir daí, foram agrupadas em blocos de acordo com o número de lactações (primíparas ou multíparas), dias em lactação (DEL inicial médio de 132 ± 60) e produção de leite (PL inicial média de $20,9 \pm 2,22$). O peso vivo inicial teve média de $459,2 \pm 53,53$. Cada bloco de vacas permaneceu sob avaliação por 90 dias. Cinco blocos iniciaram a fase experimental simultaneamente e o sexto bloco iniciou a fase experimental 30 dias após.

Os tratamentos avaliados foram dois níveis de concentrado (1:2,5 – 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos ou 1:5 – 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos), com ou sem gordura inerte no concentrado, perfazendo um arranjo fatorial 2×2 (1:2,5; 1:2,5G; 1:5 e 1:5G). A quantidade de concentrado a ser fornecida foi ajustada a cada 30 dias com base na produção média de leite dos animais de um mesmo bloco que receberam a mesma dose de concentrado (1:2,5 ou 1:5).

As composições dos concentrados experimentais encontram-se na Tabela 4. As dietas foram formuladas para animais com peso médio de 450 kg, com produção de 25 kg de leite. dia^{-1} , teores de 3,4% de gordura e 3,23% de PB no leite (NRC, 2001), com estimativa de CMS de pasto de $8,20 \text{ kg.dia}^{-1}$ para 1:2,5 e 1:2,5G e $12,7 \text{ kg.dia}^{-1}$ para 1:5 e 1:5G. Os teores de PB dos concentrados variaram entre as

doses, com a finalidade de atender às exigências de PDR (proteína degradável no rúmen) e de proteína metabolizável (PM) dos animais.

Os concentrados experimentais foram formulados para que a ingestão de gordura inerte (GI - produto comercial Megalac-E[®]) não ultrapassasse 250 g por vaca.dia⁻¹, conforme instruções da empresa fabricante. O produto comercial utilizado é descrito como fonte de gordura inerte no ambiente ruminal. O produto é composto de óleo de soja e os estudos com este produto são escassos quanto ao desempenho produtivo de vacas mantidas em pastagens.

Tabela 4 - Descrição dos concentrados experimentais (% MS)

Tratamento	1:2,5	1:2,5G	1:5	1:5G
Milho moído	80,56	77,22	82,22	76,67
Farelo de soja	15,0	15,56	8,89	8,89
Gordura inerte	0	2,78	0	5,56
Bicarbonato	1,11	1,11	2,22	2,22
Núcleo mineral	3,33	3,33	6,67	6,67
Composição, %MS¹				
PB, % MS	15,2	15,3	12,2	11,8
ELiq, Mcal.kg MS ⁻¹	1,87	2,00	1,91	2,12
1:2,5: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos sem gordura inerte; 1:2,5G: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos com gordura inerte; 1:5: 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos; 1:5G: 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos com gordura inerte. PB: proteína bruta; ELiq: energia líquida. ¹ Valores obtidos através do programa NRC (2001) mediante análise bromatológica dos alimentos utilizados no concentrado.				

O concentrado era fornecido duas vezes ao dia (3:30 e 14:30) de forma individual, sendo a quantidade total dividida em porções iguais antes de cada ordenha.

3.2 Área experimental, instalações e manejo da pastagem

A área destinada ao experimento está localizada nas dependências do Centro de Treinamento de Recursos Humanos do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP e dispunha de: piquetes de capim-elefante, cochos para fornecimento de concentrado e a área de espera junto à sala de ordenha (Figura 3).

Figura 3 - Área experimental dividida em 4 áreas, sendo A, B e C os piquetes de capim-elefante e a D correspondente ao local de manejo e sala de ordenha

Foram utilizados 20 piquetes de 2.000 m² formados com capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, cv *cameroon*) utilizados na forma de pastejo rotativo. A previsão de altura pretendida para entrada dos animais no piquete foi de 103 cm, conforme proposto por Voltolini (2006), que equivale a 95% de interceptação luminosa (IL) e saída (lote de repasse) prevista entre 40 e 50 cm, visando assegurar alta produção de forragem com elevada proporção de folhas com valor nutritivo elevado e baixa proporção de colmo e material morto (Da SILVA e CORSI, 2003).

A altura média do dossel forrageiro foi medida em cada piquete, pré e pós pastejo, traçando 4 linhas imaginárias paralelas e equidistantes com a amostragem feita em 5 pontos dentro de cada linha (20 pontos por piquete). Os 32 animais do lote (22 experimentais) realizavam o pastejo inicial, sendo o repasse feito por lote de vacas de menor produção e por novilhas, com o objetivo de atingir a meta de altura de resíduo.

Com base na análise de solo realizada no final do outono de 2010, os pastos foram adubados com 75 kg de N.ha⁻¹ por ciclo de pastejo durante o período pré-experimental. Durante o primeiro ciclo de pastejo os pastos foram adubados com 75 kg N.ha⁻¹ e nos demais ciclos de pastejo, os pastos foram adubados com 50 kg de N.ha⁻¹ quando a altura de saída era atingida, visando manter taxa de lotação de 10 a 12 UA.ha⁻¹ como obtido em experimentos anteriores (VOLTOLINI, 2006; CARARETO, 2007; DANÉS, 2010; CHAGAS, 2011) na mesma área. Junto com a aplicação do nitrogênio, foi aplicado potássio nas áreas, utilizado a fórmula comercial NPK 20-00-20.

Tabela 5 - Análise do solo da área experimental (0-20cm)

Item	Área A	Área B	Área C
Ph	5,8	5,2	5,1
Matéria orgânica	36	40	40
Macronutrientes			
P, mmol _c /dm ³	45	25	20
K, mmol _c /dm ³	5,3	2,3	2,9
Ca, mmol _c /dm ³	37	39	24
Mg, mmol _c /dm ³	20	22	12
H + Al, mmol _c /dm ³	20,19	34,29	34,29
SB, mmol _c /dm ³	62,30	63,30	38,90
T, mmol _c /dm ³	82,48	97,49	73,09
V, %	72,59	64,92	53,22
Micronutrientes			
Cu, mg/dm ³	4,8	7,3	5,7
Fé, mg/dm ³	25	50	39
Zn, mg/dm ³	7,4	7,5	6,0
Mn, mg/dm ³	52,0	117,0	86,4
B, mg/dm ³	0,57	0,84	0,88
P: fósforo; K: potássio; Ca: Cálcio; Mg: Magnésio; H + Al: hidrogênio + alumínio; SB: soma de bases; T: capacidade de troca catiônica; V: saturação de bases; Cu: cobre; Fe: ferro; Zn: zinco; Mn: manganês; B: boro.			

Na Tabela 6 são apresentados os dados meteorológicos do período em que o experimento foi conduzido, com destaque para o mês de janeiro, que apresentou

elevada temperatura, radiação solar e volume de chuvas, fatos estes que também contribuíram para o rápido crescimento do dossel forrageiro.

Tabela 6 - Dados meteorológicos nos meses em que o experimento foi conduzido

Item	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril
T _{mín} , °C	19,9	20,3	20,4	19,6	17,5
T _{máx} , °C	30,8	31,0	31,8	28,2	29,2
T _{média} , °C	24,3	24,6	24,9	23,1	22,4
UR _{mín} , %	57,5	60,4	53,8	68,8	56,4
UR _{máx} , %	99,6	99,9	100,0	99,9	100,0
UR _{media} , %	85,7	89,2	85,8	90,9	87,4
Prec., mm	225,7	400,7	137,9	218,3	131,2
RST, MJ/m ²	20,83	21,01	21,04	15,21	16,14

T_{min}: temperatura mínima; T_{máx}: temperatura máxima; T_{media}: temperatura média; UR_{min}: umidade relativa do ar mínima; UR_{máx}: umidade relativa do ar máxima; UR_{media}: umidade relativa do ar média; Prec: precipitação total do mês; RST radiação solar total.

Os cochos individuais eram de concreto, com divisórias de madeira, em galpão aberto localizado próximo à sala de espera da ordenha. Assim que todos os animais acabavam de consumir o concentrado, eram encaminhados à sala de espera para realizar a ordenha.

3.3 Amostragem dos alimentos

As massas de forragem pré e pós pastejo foram determinadas de modo destrutivo, cortando a planta a três centímetros do solo, em quatro pontos por piquete. A moldura utilizada na coleta tinha as dimensões de 1,5m x 0,75m, conforme proposto por Da Silva (comunicação pessoal). As amostragens foram realizadas um dia por semana durante todo o período experimental, exceto nas semanas em que a chuva foi intensa, sempre no próximo piquete a ser utilizado pelos animais. O material coletado nos quatro pontos do piquete foi pesado, homogeneizado e duas sub amostras de 500g foram retiradas. A primeira foi utilizada para determinação do teor de matéria seca (MS) contido na massa de forragem, em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. A segunda sub-amostra foi utilizada para a determinação da composição morfológica do dossel e

separada em folha (lâmina foliar até a lígula), colmo (bainha + colmo) e material senescido (considerando folhas e colmos com mais de 50% da área seca). Quando devidamente separados, os materiais foram secos em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, pesados e calculadas as proporções de cada fração na MS total. Ambos os procedimentos foram realizados pré e pós pastejo dos animais experimentais.

A composição bromatológica da forragem foi determinada a partir de amostragens de pastejo simulado colhidos em 20 pontos distintos dentro de cada piquete três vezes por semana para compor uma amostra por mês. As amostras foram secas da mesma forma como descritas acima, imediatamente após a coleta. As amostras foram moídas em moinho do tipo Willey em peneira de 1mm, compostas por mês e mantidas em recipientes plásticos vedados em temperatura ambiente.

Os ingredientes dos concentrados foram amostrados quinzenalmente e armazenados congelados à -18°C. Ao final do período experimental as amostras foram descongeladas, secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, compostas por ingrediente, moídas em moinho do tipo Willey em peneira de 1mm e mantidas em recipientes plásticos totalmente vedados em temperatura ambiente para posteriores análises laboratoriais.

As análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, determinadas como segue:

- 1)** MS, cinzas e extrato etéreo (EE), segundo a AOAC (1990), sendo que para a extração do EE da GI, foi adicionado ácido acético glacial ao éter de petróleo, conforme descrito por Sukhija e Palmquist (1988);
- 2)** PB pelo método de combustão de Dumas (Leco 2000, Leco Instruments Inc);
- 3)** FDN, FDA e lignina segundo Van Soest; Robertson; Lewis (1991);
- 4)** N-FDN e N-FDA por digestão com detergente neutro (sem sulfito) e detergente ácido, seguida de determinação do nitrogênio total nos resíduos, pelo micro Kjeldahl (AOAC, 1990);
- 5)** digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) da forragem e dos concentrados segundo Tilley e Terry (1963) adaptada segundo Goering e Van Soest (1970), na qual o estágio de digestão com pepsina e ácido clorídrico é substituído pela lavagem com detergente neutro.

Também foi realizado o fracionamento da proteína bruta da forragem (SNIFFEN O'CONNOR; Van SOEST, 1992). Foram determinadas as frações A, B1, B2, B3 e C. A fração A, corresponde ao nitrogênio não protéico (NNP), analisado como o nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA) (LICITRA HERNANDEZ; VAN SOEST, 1996). A fração B1 é determinada pela diferença entre o nitrogênio solúvel em solução tampão de borato fosfato (KRISHNAMOORTHY et al., 1982) e o NNP. A fração C é determinada pelo nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) (VAN SOEST ROBERTSON; LEWIS, 1991). A fração B3 é calculada pela diferença entre nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991) e NIDA. Por fim, a fração B2 é calculada como o nitrogênio total menos todas as outras frações.

3.4. Produção e amostragens do leite

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, às 4:30h e às 15:00h. Semanalmente, por três dias consecutivos, era realizada a pesagem individual do leite produzido pelos animais com medidores do tipo “Mark 5”. No segundo dia de pesagem foi coletada amostra de leite das duas ordenhas de cada vaca. As amostras foram compostas de maneira proporcional à produção em cada ordenha, perfazendo uma amostra semanal de cada vaca. O leite amostrado foi armazenado em tubo coletor plástico de 100 mL contendo 2-bromo 2-nitropropano-1-3-diol, homogeneizada e armazenada em geladeira a 15°C no período entre as ordenhas da manhã e da tarde. Na manhã seguinte as amostras eram enviadas para análise na Clínica do Leite do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP para os seguintes componentes:

- 1) gordura, proteína, caseína, lactose e nitrogênio uréico pelo processo de infravermelho;
- 2) contagem de células somáticas pelo processo de citometria de fluxo.

A produção de leite corrigido para 3,5% de gordura (PLCG 3,5%) foi calculada através da fórmula descrita por Bremmer et al., (1997):

$$\text{PLCG 3,5\%} = [(0,4324 \times \text{kg leite} \cdot \text{dia}^{-1}) + (16,216 \times \text{kg gordura} \cdot \text{dia}^{-1})]$$

3.5 Comportamento e pesagem dos animais

Foram feitas avaliações da atividade (pastejo, ruminação e ócio) de cada animal do experimento. As observações foram feitas visualmente a cada 30 dias durante 24 h, com intervalos de 10 minutos entre as visualizações. Os resultados das avaliações foram divididos em dois períodos: diurno – correspondendo das 6:00 às 17:50; ou noturno – das 18:00 às 5:50. Nos períodos em que os animais estavam a caminho da sala de ordenha ou do piquete e durante o fornecimento do concentrado e ordenha não foram feitas tais observações.

As vacas foram pesadas para avaliação da variação do peso corporal durante o período experimental, sempre a cada 30 dias após a ordenha da manhã.

3.6 Determinação do consumo de matéria seca (CMS)

O consumo de forragem foi obtido através da estimativa de produção fecal total com o uso de marcador externo, o óxido de cromo (Cr_2O_3) e da digestibilidade dos alimentos com o uso do marcador interno FDNi.

Dez gramas de Cr_2O_3 foram pesados em balança analítica e embalados em papel toalha, formando um “pélete” que foi fornecido duas vezes ao dia, totalizando 20 g por animal, durante 12 dias, iniciando no dia 40 do período experimental. Nos últimos 5 dias foram coletadas amostras de fezes diretamente do reto de cada animal, duas vezes ao dia. Após secar em estufa com ventilação forçada a 55°C por 72 horas, as amostras foram moídas para, então, fazer uma amostra composta por vaca, que foram enviadas para o Laboratório de Instrumentação Nuclear do CENA/USP.

Um grama da amostra foi transferida para uma cubeta de raio-X (Chemplex Ind. Inc. USA) com filme Mylar na base. A determinação da concentração de cromo, foi feita com espectrofotômetro de fluorescência de raios-X dispersiva em energia (EDXRF). A excitação foi realizada através de um tubo de raios-X com alvo de Rh, sem filtro e com colimador de 10 mm de diâmetro. Na detecção dos raios-X característicos foi utilizado um detector semicondutor de Si (Li). Para checar a exatidão do método, foi utilizado um padrão de fezes contendo Cr na concentração de 1200 mg.kg^{-1} , com recuperação de 84%.

A indigestibilidade dos alimentos foi determinada pela concentração de FNDi. Amostras da forragem, dos concentrados e das fezes, já compostos por período

(para forragem e concentrado) e por animal (para fezes), devidamente moídos a 1mm, foram acondicionadas em bolsas filtro F-57 (Ankom®) e incubados no rúmen de uma vaca fistulada por 240 horas, conforme metodologia descrita por Casali (2006). A incubação foi seguida de lavagem com água corrente até o total clareamento do resíduo, que foi então analisado para determinação do teor de FDN com o equipamento Ankom® (método sequencial).

A estimativa de produção total de fezes (PTF) foi calculada conforme equação abaixo:

$$PTF \text{ (kg.dia}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Quantidade de indicador administrado (g)}}{\text{Concentração do indicador nas fezes (g.kg MS}^{-1}\text{)}} \quad 2$$

A contribuição fecal proveniente do concentrado (PF concentrado) foi determinada como sendo a quantidade de concentrado oferecida no período da avaliação, multiplicada por sua indigestibilidade. Do valor obtido de PTF foi descontada a contribuição do concentrado e o valor obtido foi dividido pela indigestibilidade da forragem. Sendo assim, o consumo de pasto foi calculado com a equação:

$$\text{Consumo de pasto (kg MS.dia}^{-1}\text{)} = \frac{PTF - PF \text{ concentrado}}{1 - \text{digestibilidade da forragem}} \quad 3$$

3.7 Coleta de urina e líquido ruminal

A urina foi coletada para a determinação dos derivados de purina, conforme metodologia descrita por Valadares et al., (1999). Quatro horas após o fornecimento dos concentrados, nos dias 30, 60 e 90 do período experimental a urina foi coletada na forma “spot” (uma amostra por animal) através de estímulo via massagem na vulva. Uma alíquota de 10 mL da urina coletada foi filtrada em gaze, diluída em 90 mL de H₂SO₄ (0,036N), com o intuito manter o pH abaixo de 3, e armazenada à -18°C para posteriores análises.

As amostras foram realizadas pelo Laboratório de Nutrição Animal do CENA/USP, onde foram determinadas as concentrações de alantoína, creatinina e ácido úrico por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As amostras foram sonicadas por 15 segundos e uma alíquota de 5 mL foi centrifugada a 2000 rpm.

Dois mL do sobrenadante foram transferidos para outro frasco, onde foram adicionados 2,75 mL do tampão A (solução de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0,0025M) e 0,25 mL de padrão de oxipurinol. Após homogeneização em vórtex, 1 mL da solução foi filtrado em membrana PTFE 0,45 μm e armazenadas nos vials para análise cromatográfica.

Cerca de 60 mL do líquido ruminal foram coletados quatro horas após o fornecimento matinal de concentrado, através de ruminoscentese, técnica que consiste na obtenção do líquido ruminal através de uma punção com agulha para biópsia de tecidos mole (GARRET et al., 1999), realizada no dia último dia do período experimental. Cada animal foi preparado de forma criteriosa para que o procedimento fosse menos invasivo e estressante seguindo recomendações da literatura (GARRET et al., 1999; DUFFIELD et al., 2004; TAJIK e NAZIFI, 2011), fazendo a aplicação de anestésico local, seguida da tricotomia da área de incisão, aplicação de álcool 70% na superfície e, imediatamente após a retirada da agulha, aplicação de iodo. Após o procedimento, houve o acompanhamento dos animais para assegurar o restabelecimento de todos. Dois animais apresentaram comportamento muito agitado durante a condução do procedimento, optando a equipe por não realizá-lo. Dos 20 animais que passaram pelo procedimento, 4 apresentaram abscesso no local, necessitando de acompanhamento por um período maior até completo restabelecimento.

O pH do fluido ruminal foi mensurado logo após a coleta. A amostra foi filtrada em gaze, acondicionada em recipientes plásticos e mantidas congelados a -18°C para posteriores análises de AGV por cromatografia gasosa segundo Erwin et al., (1961) e nitrogênio amoniacal como proposto por Chaney e Marbach (1962), com adaptação para leitura em microplacas no ELISA com absorbância de 550 nm.

3.8 Coleta de sangue

A cada 30 dias foram coletadas amostras de sangue após 4 horas do fornecimento matinal do concentrado. O sangue foi retirado através de punção na veia coccígea em tubos com vácuo contendo conservante fluoreto de sódio ou EDTA, centrifugado a 3000 g por 15 minutos em temperatura ambiente. O plasma obtido foi armazenado em tubos tipo “eppendorfs” a -18°C para posteriores análises.

A determinação da glicose plasmática foi realizada a partir do kit enzimático Glicose HK Liquiform (Ref. 85 - LABTEST Diagnóstica S.A.) por espectrofotometria de ponto final, com filtro de absorbância de 505 nanômetros (nm) em Sistema

Automático para Bioquímica (Modelo SBA-200 - CELM). Uma alíquota de 4 μL da amostra foi pipetada em cubetas de reação, acrescida de 400 μL de reagente contido no kit. Após incubação de 10 minutos, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de glicose. O equipamento foi calibrado com a solução padrão contida no kit, com concentração de 100 mg.dL^{-1} de glicose.

A determinação dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi realizada com o kit enzimático NEFA (Ref. FA115 – Randox Laboratories), modificado para leitura em Sistema Automático para Bioquímica (Modelo SBA-200 – CELM), utilizando filtro de absorbância de 540nm. O padrão interno (1 mmol/L) foi diluído em água destilada para obtenção da curva padrão de 0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mmol/L. Dez μL de amostras de plasma foram pipetados em cubetas de reação seguidas de 200 μL de reagente enzimático A. Em seguida, as cubetas foram incubadas em estufa a 37°C por 5 minutos. Após este período, 400 μL de reagente enzimático B foram adicionados da mesma maneira e incubados por mais 5 minutos, sendo a leitura das amostras realizada 3 minutos após a retirada da estufa.

3.9 Perfil de ácidos graxos dos alimentos e do leite

As amostras de alimentos utilizadas para determinação do perfil de ácidos graxos (AG) dos alimentos foram as mesmas utilizadas para a análise bromatológica. As amostras de leite foram obtidas a cada 30 dias, das duas ordenhas para compor uma amostra por animal, perfazendo três amostras por animal durante o período experimental.

Para determinação do perfil de AG das amostras dos alimentos foram extraídos e metilados segundo metodologia descrita por Rodrigues-Ruiz et al. (1998). Para as amostras de leite, a extração e metilação foram realizadas segundo metodologia descrita por Hara e Randin (1978) e Christie (1982), respectivamente.

Após este procedimento, as amostras foram analisadas em cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama, com coluna capilar com 100 m de comprimento por 0,25 μm de diâmetro interno e 0,20 μm de espessura do filme. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste, numa vazão de $1,8 \text{ mL.min}^{-1}$. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70°C com tempo de espera 4 minutos, a 175°C (13°C por minuto) e tempo de espera 27 minutos, 215°C (4°C por minuto) e tempo de espera 9 minutos e, em seguida, aumentando 7°C por minuto

até atingir 230°C, permanecendo por 5 minutos, perfazendo um total de 65 minutos. A temperatura do vaporizador foi de 250°C e a do detector foi de 300°C.

Uma alíquota de 1 µL do extrato esterificado foi injetada no cromatógrafo e a identificação dos ácidos graxos foi feita pela comparação dos tempos de retenção e as percentagens dos AG foram obtidas através do software – *Chromquest 4.1* (Thermo Electron, Italy).

A identificação foi feita por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras, utilizando como padrões AG de manteiga. Os ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos. Os resultados dos ácidos graxos foram expressos em percentual de área (%), com reconhecimento de 54 AG diferentes (individuais ou grupos) e reconhecimento de 97% do total. No presente estudo, serão apresentados apenas os que contavam com mais de 0,1% de participação.

3.10 Análises estatísticas

O delineamento experimental adotado foi o de blocos aleatorizados, com arranjo fatorial 2x2, sendo 4 blocos completos e 2 incompletos (1:2,5 e 1:5 n= 6; 1:2,5GI e 1:5 GI, n= 5.). Obrigatoriamente, os conjuntos de dados foram testados antes da análise geral final, na intenção de assegurar que todas as premissas da análise de variância fossem respeitadas. Os resultados obtidos foram submetidos ao procedimento GLM do SAS. As variáveis peso corporal e teor de gordura do leite tiveram como co-variáveis seus valores no dia 0 do experimento. Com exceção dos parâmetros ruminais, as variáveis produção e componentes do leite, comportamento, derivados de purina e perfil dos AG tiveram o tempo incluído no modelo. O teste Tukey foi utilizado como teste de médias e em todos os testes realizados, foi adotado nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da estrutura do pasto

Na Tabela 7 são apresentados os valores de produção de massa de forragem (MF) e de composição morfológica da forragem.

Tabela 7 - Características estruturais e morfológicas da forragem, durante o período experimental

Parâmetro	Pré-pastejo	Pós-pastejo*
Altura, cm	110,9	69,0
Massa de forragem, kg MS.ha ⁻¹	10.070	5.840
Folhas, % MS	31,1	24,1
Colmo, % MS	21,1	20,0
Material morto, % MS	47,8	55,6
Relação folha : colmo	1,47	1,20

* valores das variáveis avaliadas no pós-pastejo do lote experimental, sem o repasse.

A altura média de entrada dos animais nos piquetes ficou acima do recomendado de 103 cm para o capim elefante cv. *cameroon*, correspondente à 95% de IL (VOLTOLINI et al., 2010). A altura de 110,9 cm do dossel forrageiro no presente estudo pode ter afetado negativamente o consumo de forragem, em virtude da estrutura do dossel menos favorável à colheita de forragem pelo animal (Da SILVA, 2009). No trabalho de Voltolini et al. (2010) a produção de leite por vaca, a lotação dos pastos e a produção de leite por área foram maiores quando os pastos de capim elefante cv. *cameroon* foram manejados com altura de entrada de 103 cm em comparação com pastos de 120 cm de altura.

O manejo da pastagem com altura de entrada acima do ideal resultou em grande produção de MF (massa de forragem) porém com baixa proporção de folhas e alta proporção de material morto. Da Silva e Nascimento Jr. (2007) caracterizaram as três etapas de rebrotação das gramíneas: na primeira fase ocorre acúmulo de MS de forma exponencial com relação ao tempo e as reservas orgânicas têm impacto significativo neste acúmulo; na segunda etapa as taxas de acúmulo são constantes, porém a competição por nutrientes e luz incidente torna-se evidente; e na terceira há queda nas taxas médias de acúmulo devido à redução na taxa de crescimento,

causado pelos fatores que ocorrem na segunda etapa, além do aumento na senescência e sombreamento das folhas inferiores.

Voltolini et al. (2010) e Carareto (2007) na mesma área, adotando alturas do dossel de 103 a 105 cm respectivamente, como critério de entrada dos animais no piquete, relataram valores de 53% e 54,36% de folhas na MF respectivamente. Apesar da diminuição em porcentagem na participação das folhas no presente estudo, com a produção de massa mais elevada, a oferta de folhas no estrato pastejável não teve grandes alterações, quando comparada aos dois trabalhos supracitados, e pode ser considerada representativa.

Um dos fatores que levaram à elevada produção de massa de forragem foi a adubação nitrogenada aliada à fatores climáticos favoráveis (Tabela 6), resultando em crescimento acelerado do dossel. No primeiro ciclo de pastejo, a adubação foi de 75 kg de N.ha⁻¹, período em que a altura média de entrada foi de 115,5 cm. Esta quantidade foi diminuída a partir do segundo ciclo para 50 kg de N.ha⁻¹, diminuindo a altura de entrada para 110,6 cm e no terceiro ciclo para 98,1 cm. A adubação nitrogenada acelera o crescimento dos tecidos vegetais, dessa forma, a colheita também deverá ser acelerada para evitar que o dossel atinja a terceira etapa do período de rebrotação, como supracitado, resultando em alongamento de hastes e material senescido.

O período médio de ocupação dos piquetes pelos animais experimentais foi de 1,8 dias, com variação de 0,5 a 5 dias em função da variação nas taxas de crescimento dos pastos ao longo do período experimental (dezembro a abril). Nos últimos 30 dias do período experimental, apenas 10 vacas (4 vacas experimentais do sexto bloco e 6 do rebanho) foram mantidas na área de pastagem.

Além das 32 vacas (22 experimentais e 10 do rebanho) que realizaram o pastejo de ponta, na maioria dos piquetes foi necessária a utilização de lote de repasse em virtude da grande produção de MF que resultava em mais de um piquete atingindo a altura ideal de entrada ao mesmo tempo. O lote de repasse contou com 27 vacas em estágio de lactação mais avançado, que permaneceram nos piquetes um dia. A altura média pós pastejo do lote de repasse foi de 57,8 cm.

O intervalo de desfolha dos pastos, considerando o lote de ponta e o de repasse variou ao longo do período experimental, com mínimo de 18 e máximo de 56 dias (devido à infestação por cigarrinhas em alguns piquetes), com média de 36 dias.

Considerando os dados da Tabela 7, o lote de 32 vacas (22 experimentais), a área de 2000 m² de cada piquete e o período médio de ocupação dos piquetes de 1,8 dias, a oferta média de forragem foi de 35 kg de MS.vaca⁻¹.dia⁻¹. Bargo et al. (2002) verificaram efeito positivo no CMS e na produção de leite de vacas de alta produção mantidas em piquetes com maior disponibilidade de forragem (48,9 x 26,7 kg MS.vaca.dia⁻¹) sem a suplementação com concentrado. A oferta de duas vezes o consumo de MS de forragem tem sido apontada como adequada para otimizar o CMS de vacas em lactação (SANTOS et al., 2005).

Houve desaparecimento de 4,2 ton de MS.ha⁻¹ ou 846 kg MS por piquete por ciclo de pastejo, resultando no desaparecimento de 14,7 kg de MS.vaca⁻¹.dia⁻¹. Teoricamente, mesmo assumindo perdas durante o pastejo, esse valor seria suficiente para atender os consumos de MS de forragem estimados na formulação das dietas experimentais utilizando o NRC (2001) de 8,20 kg MS.vaca.dia⁻¹ para os tratamentos 1:2,5 e 12,7 kg MS.vaca.dia⁻¹ para os tratamentos 1:5. Entretanto, a quantidade de folhas desaparecidas foi de apenas 6 kg de MS.vaca⁻¹.dia⁻¹. É pouco provável que isso tenha ocorrido de fato, pois a quantidade de folhas na pastagem (3.121 kg de MS.ha⁻¹) era alta e a observação visual do pasto e da atividade de pastejo das vacas, indicou claramente que as vacas consumiam principalmente as folhas da pastagem, como normalmente ocorre nessas condições. Em pastagens cespitosas é freqüente a ocorrência de imprecisões na coleta de dados de massa de forragem pré e pós-pastejo.

4.2 Caracterização dos alimentos

Na Tabela 8 encontram-se os valores referentes à análise bromatológica dos componentes das dietas experimentais.

Tabela 8 - Análise bromatológica dos constituintes das dietas experimentais fornecidas aos animais, com base na matéria seca (MS)

Fonte	MS (%)	PB (% MS)	FDN (% MS)	FDA (% MS)	Lig (%MS)	EE (%MS)	Cz (%MS)	DIV (%MS)
Forragem	19,7	18,6	54,4	35,0	3,0	2,8	11,3	55,8
Milho	75,8	9,2	11,8	3,7	1,2	5,0	2,9	92,5
F.Soja	78,1	52,7	11,7	7,8	1,7	1,8	7,0	98,8
Megalac-E	84,4	0,4	0,7	-	-	90,1	21,9	93,3
Bicarbonato	93,9	-	-	-	-	-	99,6	-
Mineral	87,8	-	-	-	-	-	89,1	-

FDN: Fibra solúvel em detergente neutro; FDA: Fibra solúvel em detergente ácido; Lig: Lignina; EE: Extrato etéreo; Cz: Cinzas; DIV: Digestibilidade *in vitro* da matéria seca;.

Os valores obtidos na análise bromatológica dos alimentos estão dentro do esperado, com destaque para a forragem (amostra de pastejo simulado), que apresentou teores altos de PB e baixos de FDN. Estes valores estão em concordância com outros valores descritos no tópico 2.1 onde foram apresentados valores de PB e FDN de amostras de pastejo simulado obtidas em pastagens adubadas e bem manejadas de cultivares de capim elefante.

Além do teor de PB é de grande importância conhecer as frações que a constituem. A PB pode ser dividida em cinco frações, conforme Sniffen; O'Connor; Van Soest, (1992) e a principal diferença entre elas é a taxa de degradação ruminal. Na Tabela 9 são apresentados os valores das diferentes frações da PB da forragem.

Tabela 9 - Frações da proteína bruta (PB) das amostras de pastejo simulado da forragem conforme proposto por Sniffen; O'Connor; Van Soest (1992)

N total (% MS)	NNP	N solúvel	NIDN	NIDA	
% N Total					
2,78	18,90	24,39	31,70	12,80	
% PB	A	B1	B2	B3	C
% PB					
18,63	18,90	5,49	43,91	18,90	12,80

NNP: Nitrogênio não protéico; NIDN: Nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA: Nitrogênio insolúvel em detergente ácido.

De acordo com os dados da Tabela 9, fica evidente que plantas forrageiras tropicais adubadas com doses altas de N, quando colhidas próximas do ponto ideal,

apresentam teores elevados de PB. Apesar da adubação com N aumentar preferencialmente a fração A (NNP) da PB da forragem (JONHSON et al., 2001), a maior parte da proteína (68,3%) da forragem do presente estudo foi representada por proteína verdadeira (frações B1, B2 e B3).

No presente estudo a fração A (NNP) representou 18,9% da PB. Em trabalhos conduzidos anteriormente na mesma área, com condições similares de manejo (ROMERO, 2008; DANÉS, 2010; CHAGAS, 2011) foram relatados valores de fração A de 20,7 a 30,2%, 21,3% e 26% da PB respectivamente. A fração A é totalmente degradada no rúmen a amônia que, quando em excesso, diminui a eficiência de uso do N dietético. As forrageiras tropicais apresentam baixos teores de CNF (carboidratos não fibrosos), o que pode limitar o uso eficiente da PDR.

Entretanto, apesar de doses elevadas de N resultarem em teores elevados de PB nas plantas forrageiras tropicais, a degradabilidade ruminal (MARTINEZ, 2008; ROMERO, 2008; DANÉS, 2010) dessa proteína não é tão alta quanto o relatado para as plantas de clima temperado (NRC, 2001). De acordo com os trabalhos de (MARTINEZ, 2008; ROMERO, 2008; DANÉS, 2010), a taxa de degradação ruminal da fração B (*in situ*) variou de 4,2 a 5,8% h⁻¹ contra valores de 12,3% para plantas de clima temperado (NRC, 2001).

Para uma vaca de 450 kg de peso corporal (PC), com consumo de 10,8 kg de MS (2,4% do PC) do capim elefante amostrado no presente estudo, se forem assumidos valores no NRC (2001) de 24,4% da PB como fração A (*in situ*; correspondente à fração A+B1 do CNCPS) e de 62,8% de fração B (*in situ*; correspondente à fração B2+B3 do CNCPS) com taxa de degradação da fração B de 4,2 ou 5,8% h⁻¹, o valor de proteína degradável no rúmen (PDR,% da PB) deverá variar de 54 a 60% respectivamente, de acordo com o NRC (2001). Estes valores não caracterizam PB de alta degradabilidade ruminal e são inferiores aos valores de PDR (% da PB) do farelo de soja (NRC, 2001).

Considerando as vacas do presente estudo, suplementadas com 7,3 kg de MS de concentrado (1:2,5), com consumo diário estimado no momento da formulação das dietas experimentais de 11,2 kg de MS de forragem e consumo total de MS de 18,5 kg, a taxa de passagem de sólidos será maior e o valor estimado de PDR será menor que na simulação acima. Nesse caso, de acordo com o NRC (2001), o valor estimado de PDR (% da PB) da forragem será de apenas 51%.

A participação da fração protéica C foi elevada, visto que em outros trabalhos este valor não ultrapassou os 6,4% (ROMERO, 2008; LIMA et al., 2008; DANÉS, 2010). Chagas (2011) trabalhando na mesma área obteve 11,07%, valor semelhante ao obtido no presente estudo. Como citado anteriormente, a fração C é considerada indisponível ao uso pelos microrganismos e pelo animal por estar fortemente ligada a parede celular, tendo grande influência no aproveitamento da PB. A altura de entrada acima do recomendado pode ter influenciado no resultado obtido neste estudo, pois a idade da planta é um dos fatores que influenciam na participação da fração C. Outro fator é a forma de amostragem, mas seus efeitos podem ser confundidos com a idade da planta. Tem sido demonstrado que a medida que aumenta a idade de corte da planta inteira, há redução da fração proteica solúvel e aumenta a fração insolúvel (VIEIRA et al., 1997; CABRAL et al., 2000; JOHNSON et al., 2001). Tentando isolar este efeito, Vendramini et al. (2008) avaliaram diferentes idades de corte acima da altura do resíduo e verificaram o mesmo padrão de resposta.

4.3 Consumo de matéria seca

Na Tabela 10 estão descritos os consumos de matéria seca do pasto e total, em kg MS.dia⁻¹ e % peso vivo (PV), determinados com o uso de Cr₂O₃.

Tabela 10 - Consumo de matéria seca de pasto (CMSp) e total (CMSt) de vacas mantidas em pastagem tropical, recebendo duas doses de concentrado com ou sem gordura inerte

Variáveis	1:2,5		1:5		P		
	Sem GI	Com GI	Sem GI	Com GI	D	GI	D x GI
CMSp, kg.dia ⁻¹	9,2 _{0,987}	9,4 _{1,112}	11,6 _{0,987}	12,8 _{1,277}	*	NS	NS
CMSp, % PV	2,2 _{0,201}	1,9 _{0,227}	2,6 _{0,201}	2,8 _{0,260}	*	NS	NS
CMSt, kg.dia ⁻¹	16,5 _{1,021}	16,5 _{1,150}	14,7 _{1,021}	15,8 _{1,321}	NS	NS	NS
CMSt, % PV	3,9 _{0,232}	3,5 _{0,261}	3,3 _{0,232}	3,4 _{0,300}	NS	NS	NS

1:2,5: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos;
 1:5: 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos;
 PV: peso vivo; GI: gordura inerte; D x GI: Interação dose x GI. NS: não significativo (P> 0,05);
 Valores subscritos referem-se ao erro padrão da média.

Os valores obtidos para CMSp são próximos dos preditos pelo NRC (2001) para todos os tratamentos e dentro do observado na literatura com vacas em

pastagens tropicais (SANTOS et al., 2011). Os valores de CMSp estimados com o óxido de cromo (produção fecal) e FDNi (digestibilidade da foragem) são condizentes com as produções de leite observadas. A técnica do uso do Cr_2O_3 como marcador possui limitações e dentre elas pode-se citar a recuperação fecal. Na literatura são relatados valores entre 76 e 100% de recuperação (RIBEIRO FILHO; ZIMERMANN; KOZLOSKY, 2008) e a consequência desta recuperação parcial é que a produção fecal e o CMS podem ser superestimados. Para os cálculos realizados no presente estudo, foi adotada recuperação de 82,5% (RIBEIRO FILHO et al, 2008; OLIVEIRA et al., 2007).

Em estudos anteriores conduzidos na mesma área experimental, com vacas do mesmo rebanho, suplementadas com doses altas de concentrado e produzindo 19,5 a 24,3 kg leite.dia⁻¹, os valores obtidos de CMSp foram de 10 a 12,5 kg MS vaca.dia⁻¹ (DANÉS, 2010; CHAGAS, 2011).

Como esperado, houve efeito da dose de concentrado no CMSp ($P < 0,05$). Vacas suplementadas com doses maiores de concentrado (1:2,5) apresentaram menor CMSp.

O CMSp pode ser afetado por fatores como a disponibilidade e digestibilidade do pasto, quantidade e características físicas e químicas do suplemento, estágio de lactação (KELLAWAY e PORTA, 1993) e também a estrutura do dossel forrageiro (Da SILVA, 2009).

O efeito de substituição de forragem por concentrado está bem estabelecido na literatura quando vacas leiteiras em pastagens são suplementadas com concentrado (BARGO et al., 2003; SANTOS et al, 2011). Apesar da proposta clássica de efeito negativo do concentrado no pH ruminal e por consequência na digestibilidade da forragem, como fator determinante da redução no consumo de forragem, este conceito não encontra suporte consistente na literatura (SANTOS et al., 2010a).

O CMSt não foi afetado pela dose de concentrado ($P > 0,05$). As vacas suplementadas com dose baixa de concentrado (1:5) apresentaram o mesmo CMSt que as vacas suplementadas com dose alta, em virtude do aumento no CMSp. Esse efeito pode ser interpretado como tentativa das vacas de regular a ingestão de nutrientes. No entanto, este mecanismo não foi suficiente para manter a produção de leite semelhante ao tratamento com maior quantidade de suplemento, que foi

maior (Tabela 11). De acordo com Bargo et al. (2003), de maneira geral, o CMSp diminui e o CMSt aumenta com o aumento na quantidade de suplemento.

Não foi observado efeito da suplementação com GI no CMSp e no CMSt ($P>0,05$). A dose de GI suplementada foi baixa e não era esperado efeito negativo no CMSp ou CMSt dos animais, portanto, o efeito negativo da suplementação com GI na produção de leite (Tabela 11) não pode ser explicada por efeitos negativos no consumo de nutrientes.

4.4 Desempenho e composição do leite

Na Tabela 11 estão descritos os resultados obtidos para peso corporal, produção e composição do leite.

Tabela 11 – Peso corporal, variação do peso, produção e composição do leite dos animais recebendo duas doses de concentrado, com ou sem gordura inerte durante o período experimental

Variáveis	1:2,5		1:5		P		
	Sem GI	Com GI	Sem GI	Com GI	D	GI	D x GI
Peso, kg.dia⁻¹	446,4 _{3,86}	467,4 _{3,86}	454,6 _{3,86}	457,9 _{3,86}	NS	*	*
Var. Peso, kg	1,3 _{8,15}	3,4 _{9,00}	0,27 _{8,15}	2,63 _{9,00}	NS	NS	NS
PL, kg.dia⁻¹	17,6 _{0,44}	15,4 _{0,47}	14,2 _{0,44}	15,0 _{0,47}	*	NS	*
PLCG, kg.dia⁻¹	17,8 _{0,49}	14,9 _{0,52}	14,8 _{0,49}	15,1 _{0,52}	*	*	*
Gordura, %	3,72 _{0,06}	3,34 _{0,06}	3,79 _{0,06}	3,41 _{0,06}	*	*	NS
Gordura, kg.dia⁻¹	0,62 _{0,02}	0,51 _{0,02}	0,53 _{0,02}	0,53 _{0,02}	NS	*	*
Proteína, %	3,26 _{0,06}	3,25 _{0,06}	3,26 _{0,06}	3,12 _{0,06}	NS	NS	NS
Proteína, kg.dia⁻¹	0,57 _{0,02}	0,49 _{0,02}	0,46 _{0,02}	0,47 _{0,02}	*	NS	*
Caseína, %	2,52 _{0,05}	2,49 _{0,05}	2,53 _{0,05}	2,40 _{0,05}	NS	NS	NS
Caseína, kg.dia⁻¹	0,44 _{0,01}	0,38 _{0,01}	0,36 _{0,01}	0,36 _{0,01}	*	*	*
Lactose, %	4,42 _{0,05}	4,39 _{0,06}	4,47 _{0,05}	4,42 _{0,06}	NS	NS	NS
Lactose, kg.dia⁻¹	0,78 _{0,02}	0,68 _{0,02}	0,63 _{0,02}	0,66 _{0,02}	*	NS	*
CCS, x mil.mL⁻¹	177,6 _{65,62}	338,9 _{68,00}	238,8 _{61,37}	246,5 _{66,20}	NS	NS	NS
NUL, mg.dL⁻¹	8,80 _{0,39}	10,0 _{0,42}	11,6 _{0,39}	11,2 _{0,42}	*	NS	NS

1:2,5: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos; 1:5: 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos; **GI**: gordura inerte; **Var. Peso**: variação de peso vivo; **PL**: produção de leite; **PLCG**: produção de leite corrigido para 3,5% de gordura; **CCS**: contagem de células somáticas; **NUL**: nitrogênio uréico no leite; **D**: dose; **D x GI**: interação dose e gordura; **NS**: não significativo, $P>0,05$; *: significativo, $P<0,05$; Não houve interação entre dose e tempo, GI e tempo, dose, GI e tempo; Valores subscritos referem-se ao erro padrão da média.

4.4.1 Peso

Os animais utilizados no presente estudo apresentavam peso médio inicial de 459,2 kg. Durante os 90 dias de experimento, o peso corporal das vacas não foi afetado pelas doses de concentrado testadas.

Na Figura 4 é mostrada a evolução do peso corporal dos animais ao longo dos 90 dias de experimento.

Figura 4 - Variação do peso dos animais longo do período experimental

Com base nos dados da Tabela 11 e da Figura 4, fica evidente a perda de peso dos animais nos primeiros 60 dias experimentais, quando as vacas já se aproximavam do terço médio da lactação. Concomitante a este período, observa-se queda na produção de leite e subsequente ganho de peso nos últimos 30 dias do período experimental. Teoricamente, o fornecimento de maior quantidade de concentrado energético poderia diminuir a severidade do balanço negativo de energia e após o pico da lactação, parte da energia consumida poderia ser direcionada para outras funções no organismo, como reposição das reservas corporais, resultando em aumento do peso. Esse provável efeito positivo da dose mais alta de concentrado não foi observado no presente estudo. Isso talvez possa ser explicado pelo aumento na produção de leite com dose alta de concentrado.

Vilela et al. (2007) testaram duas doses de concentrado para vacas mantidas em pastagem de coast-cross e avaliaram o escore de condição corporal (ECC), que possui relação com o peso vivo do animal. Houve diferença entre o grupo de animais que receberam 3 ou 6 kg de concentrado. Os animais que consumiram 3 kg tiveram queda em seu ECC entre o período inicial e o médio da lactação, recuperando peso apenas no estágio final da lactação, enquanto que os que receberam 6 kg apresentaram aumento no ECC entre o início e meio da lactação, mantendo o mesmo até o final. Além disso, os autores também relataram queda no intervalo entre partos, indicando efeitos positivos na reprodução dos animais que receberam maior quantidade de concentrado.

De acordo com Bargo et al. (2003) a suplementação com concentrado pode contribuir para melhor escore de condição corporal das vacas em pastagens. A ausência de efeito da dose de concentrado no peso vivo e na variação deste no presente estudo deve ser vista com cautela em virtude da curta duração do estudo, apenas 90 dias e também pelo fato do experimento não ter sido conduzido com as vacas na fase inicial de lactação.

Houve interação ($P < 0,05$) entre dose de concentrado e suplementação com GI. O uso da GI aumentou o peso das vacas tratadas com dose alta de concentrado mas não nas vacas alimentadas com doses baixas. O efeito positivo da GI no peso corporal das vacas recebendo dose alta de concentrado, aparentemente ocorreu em virtude do seu efeito negativo na produção de leite. Apesar do efeito no peso médio das vacas, a variação de peso não foi afetada pela suplementação com GI.

O uso de fontes de GI pode ser uma alternativa para aumentar a densidade energética do concentrado e acelerar a recuperação e acúmulo das reservas corporais perdidas, com reflexos positivos no decorrer da lactação e na reprodução de vacas leiteiras (VILELA et al., 2002; SCHROEDER et al., 2002). Entretanto, no presente estudo esse efeito positivo foi observado apenas nas vacas recebendo dose alta de concentrado com efeito negativo na produção de leite e nos teores de gordura do leite.

Vilela et al. (2002) avaliaram vacas Holandesas em pastagem de coast-cross recebendo ou não GI (óleo de palma + soja) nos primeiros 90 dias de lactação e observaram maiores ganhos de peso para os animais que receberam GI ($28 \times 11 \text{ kg.vaca}^{-1}$). Entretanto, os animais que não receberam GI nos primeiros 90 dias de lactação tiveram maior ganho de peso no período final da lactação ($37 \times 17 \text{ kg}$). O

maior ganho de peso nos primeiros 90 dias de lactação pode ter efeito positivo na fertilidade das vacas.

4.4.2 Produção de leite e Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura

A produção de leite (PL) foi afetada pela dose ($P<0,05$) de concentrado fornecida mas não pela suplementação com GI ($P>0,05$), tendo havido interação entre dose de concentrado e GI ($P<0,05$).

O fornecimento da dose maior de concentrado resultou em maior produção de leite que o fornecimento da dose menor (16,52 x 14,60 kg). Na ausência de GI, as vacas alimentadas com a dose alta de concentrado produziram em média 3,4 kg de leite a mais por dia (17,6 x 14,2 kg) que as vacas alimentadas com dose baixa de concentrado. Quando suplementadas com GI as vacas que receberam a dose alta de concentrado produziram apenas 0,4 kg de leite a mais (15,4 x 15,0). A interação entre dose de concentrado e suplementação com GI explica essa diferença de resposta à dose de concentrado. A suplementação com GI reduziu em 2,2 kg (17,6 x 15,4 kg) a produção diária de leite de vacas suplementadas com dose alta de concentrado, mas não teve efeito significativo na produção das vacas suplementadas com dose baixa de concentrado (14,2 x 15,0 kg). Não houve diferença entre os tratamentos 1:2,5G, 1:5 e 1:5G.

A produção de leite corrigida para gordura (PLCG) foi afetada pela dose de concentrado ($P<0,05$) e pela suplementação com GI ($P<0,05$), tendo havido interação entre dose de concentrado e GI ($P<0,05$).

O fornecimento de dose maior de concentrado resultou em maior PLCG que o fornecimento de dose menor (16,3 x 15,0 kg). Na ausência de GI, as vacas alimentadas com a dose alta de concentrado produziram em média 3,0 kg de LCG a mais por dia que as vacas alimentadas com dose baixa de concentrado (17,8 x 14,8kg). A suplementação com GI reduziu em 2,9 kg (17,8 x 14,9 kg) a PLCG diária das vacas suplementadas com dose alta de concentrado, mas não teve efeito significativo na PLCG das vacas suplementadas com dose baixa de concentrado (14,8 x 15,1 kg). Não houve diferença entre os tratamentos 1:2,5G, 1:5 e 1:5 G.

Na Figura 5 são mostradas as variações durante o período experimental para a PL e PLCG.

Figura 5 - Produção de leite (acima) e produção de leite corrigido para 3,5% de gordura (PLCG – abaixo) ao longo do período experimental

Os efeitos positivos observados de doses de concentrado na PL e na PLCG estão de acordo com a revisão de Bargo et al. (2003) para vacas de alta produção mantidas em pastagens de clima temperado. Na revisão de Santos et al. (2010) considerando condições brasileiras, como pastagens de clima tropical e sua composição nutricional e animais com menor mérito genético, também foram relatados aumentos na produção de leite e de PLCG com doses mais altas de concentrado.

Os animais no tratamento 1:2,5 tiveram produção média leite de 17,6 kg.dia⁻¹, com consumo médio de concentrado de 7 kg.dia⁻¹ e o tratamento 1:2,5G, a produção média foi de 15,4, com consumo médio de concentrado de 6,7 kg. Já para os tratamentos 1:5 e 1:5G, as produções médias de leite foram 14,2 e 15,0, com consumo médio de concentrado de 2,8 e 3,0 kg.dia⁻¹, respectivamente. Os valores

para o tratamento 1;2,5 estão próximos à média ($17,94 \text{ kg.dia}^{-1}$) da compilação de Santos et al. (2010), com relação kg de concentrado: produção de leite de 1:2,8.

O efeito negativo da suplementação com GI na produção das vacas alimentadas com doses altas de concentrado pode ser consequência de ambiente ruminal desfavorável à biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen e seus efeitos negativos na fermentação ruminal. Esse efeito negativo também pode ser indicativo de que a fonte de gordura não se manteve inerte no rúmen. Entretanto, o possível efeito negativo da fonte de GI na fermentação ruminal não foi observado no presente estudo com coleta de fluido ruminal feita 4 horas após o fornecimento matinal do concentrado (Tabela 13).

Vilela et al. (2002) obtiveram aumento expressivo na produção de leite de vacas mantidas em pastagens tropicais e suplementadas com $0,7 \text{ kg dia}^{-1}$ de fonte de GI, nos primeiros 90 dias de lactação. Nesse estudo a fonte de GI continha óleo de palma e não óleo de soja como no presente estudo.

Freitas Jr. et al. (2010) avaliaram os efeitos de fontes de energia oriundas da soja (óleo, grão integral e GI) para vacas confinadas recebendo silagem de milho e relataram redução no CMS para os animais recebendo a GI e redução na produção de leite para os animais que receberam grãos de soja.

Para vacas leiteiras em pastagens, dos nove trabalhos apresentados na Tabela 3, em sete deles, o tratamento controle não continha fonte de gordura suplementar. Em cinco desses estudos não houve diferença estatística para a inclusão de gordura na dieta (SCHROEDER et al., 2002, 2003; BOKEN et al., 2005; KAY et al., 2007; REGO et al., 2009). Destes cinco, dois utilizaram sais de Ca (SCHROEDER et al., 2003; BOKEN et al., 2005) e o restante óleo. Nos outros dois dos sete estudos, a adição de gordura suplementar aumentou a produção de leite (VILELA et al., 2002; SALADO et al., 2004).

O efeito negativo da fonte de GI na produção de leite no presente estudo pode estar relacionada à fonte de gordura, ou seja, o óleo de soja, rico em ácidos graxos insaturados. Entretanto, não foi possível determinar o mecanismo pelo qual esse efeito negativo ocorreu.

4.4.3 Teor e produção de gordura no leite

A gordura é o principal componente energético e, dos sólidos do leite, é o mais influenciado pela dieta fornecida (SUTTON, 1989). Composta por cerca de 98%

de triglicerídeos, seus ácidos graxos são em grande parte saturados e de cadeia curta (MATTOS e PEDROSO, 2005). Seus principais precursores são o ácido acético e butírico, ácidos graxos de cadeia curta provenientes da fermentação ruminal e, a partir destes, são sintetizados na glândula mamária os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) presentes no leite (*síntese de novo*). Os ácidos graxos de cadeia longa do leite são provenientes da dieta e reservas corporais (MATTOS e PEDROSO, 2005; MACHADO et al. 2011).

Na Tabela 11 são apresentados os dados de composição do leite. Os teores de gordura do leite, entre 3,15 e 3,87% foram baixos considerando que as produções de leite foram de, no máximo 19,0 kg dia⁻¹, além do fato de que as vacas foram alimentadas com dietas ricas em FDN e baixas em CNF, típicas de vacas mantidas em pastagens. Valores da ordem de 3,6 a 4,0% de gordura no leite são normalmente obtidos com vacas confinadas com produções superiores a 30 kg de leite dia⁻¹ (WHITE et al., 2001; ROCHE et al., 2007). Vacas de alta produção mantidas em pastagens, geralmente produzem leite com menor teor de gordura comparado ao leite de vacas confinadas. Isso ocorre em virtude do menor consumo de energia das vacas em pastagens, além da forragem ser rica em ácido linolêico e em ácido linolênico, ambos precursores dos isômeros do CLA que causam depressão na gordura do leite (WHITE et al., 2001; COUVREUR et al., 2007).

O teor de gordura do leite foi reduzido nos tratamentos com dose alta de concentrado (3,53 x 3,60%) e de forma marcante nos tratamentos com GI (3,76 x 3,38%). Na maioria dos estudos revisados por Bargo et al. (2003) houve queda nos teores de gordura do leite quando o nível de concentrado foi aumentado para vacas em pastagens. A mesma tendência foi constatada em revisão apresentada por Santos et al. (2010). Entretanto, Roche et al. (2007), Vilela et al. (2007), Da Silva et al. (2009) e Wales et al. (2009) não relataram diferenças para o teor de gordura do leite com o aumento da dose de concentrado, mas foi observado decréscimo numérico.

Doses altas de concentrado podem resultar em queda no pH ruminal em níveis críticos para a digestão de fibra e para o processo de biohidrogenação ruminal, resultando na formação de ácidos graxos de cadeia trans, que têm efeito negativo na síntese de gordura do leite na glândula mamária (PALMQUIST e MATTOS, 2006). Entretanto, no presente estudo não houve nenhuma evidência de efeito negativo da dose alta de concentrado no pH e na fermentação ruminal (Tabela

13). É possível que a queda nos teores de gordura do leite observados com o uso do concentrado no presente estudo tenham, em parte, ocorrido em virtude do efeito de diluição causado pelo aumento na produção de leite.

O efeito negativo da fonte de GI no teor de gordura do leite foi de 10% (3,76 x 3,38%) e foi maior que o efeito da dose de concentrado. Não houve interação entre dose de concentrado e suplementação com GI, ou seja, a suplementação com GI teve efeito negativo acentuado tanto para vacas alimentadas com dose alta quanto com dose baixa de concentrado. Nas vacas alimentadas com dose alta de concentrado, a suplementação com GI reduziu o volume de leite e o teor de gordura do leite.

A produção de gordura do leite não foi afetada pela dose de concentrado ($P=0,09$), porém houve interação entre dose de concentrado e suplementação com GI. A suplementação com GI reduziu a produção de gordura do leite de vacas alimentadas com dose alta de concentrado, mas não teve efeito nas vacas alimentadas com doses baixas. Não houve diferença entre os tratamentos 1:2,5G, 1:5 e 1:5 G.

Na Figura 6 é mostrada a evolução no teor e produção de gordura ao longo do período experimental.

Figura 6 - Teor (% , esquerda) e produção (kg.dia⁻¹ – direita) de proteína ao longo do período experimental

Nos trabalhos compilados na Tabela 3, os teores e as produções de gordura do leite foram afetados pela suplementação com lipídeos de formas variáveis. A suplementação com fontes de óleo parcial ou totalmente hidrogenadas aumentou o

teor e a produção de gordura do leite (Schroeder et al., 2002; SALADO et al., 2003). As suplementações com AGI (SCHROEDER et al., 2003), com óleo de colza ou com óleo de girassol (REGO et al., 2009) e com CLA (KAY et al., 2007; MEDEIROS et al., 2010) reduziram o teor e a produção de gordura do leite.

Nos trabalhos citados no NRC (2001) observa-se que os resultados são inconsistentes com efeitos negativos e positivos nos teores e produções de gordura do leite. Essas variações são dependentes da fonte e da quantidade oferecida, ressaltando que quantidades excessivas de ácidos graxos insaturados poderão resultar em processos incompletos de biohidrogenação, gerando metabólitos intermediários que inibem a *síntese de novo* de gordura na glândula mamária. Nos trabalhos citados na Tabela 3, as fontes utilizadas nos trabalhos com queda na gordura do leite eram de ácidos graxos insaturados, na forma de óleo ou sais de Ca, reforçando a teoria da depressão da síntese de gordura. Os aumentos na gordura do leite nos trabalhos aqui apresentados, estão relacionados ao uso de ácidos graxos hidrogenados (SCHROEDER et al., 2003; SALADO et al., 2004).

A hipótese mais provável para explicar o efeito negativo da suplementação com GI no teor de gordura do leite, é que a fonte de gordura utilizada no presente estudo não se apresentou inerte no rúmen. Pode ter ocorrido intensa dissociação dos sais de Ca e biohidrogenação incompleta da gordura suplementar, aumentando a quantidade de isômeros do CLA direcionados para a glândula mamária. Mesmo com pH ruminal acima de 6,0, a presença de óleo livre no rúmen pode afetar negativamente o teor de gordura do leite (JENKINS, 1993).

Os efeitos da adição de óleo de soja parecem ser mais consistentes na queda da gordura do leite. A maior quantidade de AG insaturados em sua composição leva à biohidrogenação incompleta dos mesmos, aumentando a presença dos compostos intermediários, tais como o trans-11 C18:1 e cis-9, trans 11 CLA, no sangue e no leite (ZHENG et al., 2005; ALZAHAL et al., 2008).

Comparando fontes de lipídeos provenientes de soja (óleo, grão integral e GI) para vacas confinadas, Freitas Jr. et al. (2010) relataram redução no teor de gordura do leite comparado ao controle, com redução mais acentuada para GI (3,07 x 2,83, controle e GI, respectivamente), sem que a produção de leite tenha acompanhado tal comportamento (26,6 x 25,7 para o controle e GI, respectivamente). Os autores atribuíram estes resultados ao menor CMS para os animais recebendo GI e

possivelmente à menor produção de AGV, redução na digestão da fibra e aumento dos produtos da biohidrogenação incompleta alcançando a glândula mamária.

4.4.4 Teor e produção de proteína e caseína do leite

A fração protéica do leite é composta por dois grupos, as proteínas do soro e as caseínas. As proteínas do soro são compostas pela β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, produzidas na glândula mamária, a albumina sérica e as imunoglobulinas, provenientes da corrente sanguínea. As caseínas são compostas por quatro frações principais, α_{s1} - caseína, α_{s2} - caseína, β -caseína e κ -caseína, todas produzidas na glândula mamária (SWAISGOOD, 1993). As caseínas representam cerca de 80% da fração protéica do leite e 20% são as proteínas do soro (NRC, 2001). Também fazem parte da proteína do leite, em menor quantidade, os compostos nitrogenados não protéicos, como a uréia, creatina e creatinina.

O efeito da nutrição sobre o teor de proteína do leite é menor do que observado para a gordura e os fatores que implicam nesta baixa resposta ainda não são bem esclarecidos (SANTOS et al., 2010). Conforme os dados compilados na Figura 2 (SANTOS et al., 2010), houve aumento discreto no teor de proteína do leite de vacas mantidas em pastagens, com aumento na dose de concentrado, corroborando com a revisão apresentada por Bargo et al. (2003).

O fornecimento de maior quantidade de energia, via uso de suplementos amiláceos, promove maiores produções de propionato, disponibiliza esqueletos carbônicos e melhora a eficiência de uso da amônia no rúmen (REIS e COMBS, 2000). Com isso a produção de proteína microbiana (P_{mic}) é incrementada, aumentando o fluxo de proteína metabolizável para o intestino e a absorção de aminoácidos (NRC, 2001). O propionato é o principal precursor de glicose, via gliconeogênese no fígado e aumentar sua produção ruminal pode resultar em aumento na disponibilidade de glicose para o animal (THEURER et al., 1999). O maior aporte de aminoácidos e de glicose para a glândula mamária favorece a síntese de proteína do leite.

Entretanto, no presente estudo não houve efeito de dose de concentrado no teor de proteína bruta e de caseína do leite. Em parte, essa ausência de efeito pode ser explicada por efeito de diluição, uma vez que a produção de leite foi maior com a dose alta de concentrado.

A suplementação com gordura não afetou o teor de proteína bruta e de caseína do leite. Na literatura com vacas confinadas, o efeito depressor da suplementação com gordura no teor de proteína do leite é bem estabelecido (WU e HUBER, 1994). A ausência de efeito negativo da suplementação com GI no teor de proteína do leite no presente estudo pode ser explicada pelo efeito negativo da GI na produção de leite das vacas suplementadas com dose alta de concentrado.

Nos trabalhos compilados na Tabela 3, os teores de proteína do leite foram pouco afetados pela suplementação com gordura para vacas em pastagens. Na maioria dos trabalhos apresentados não houve efeito da inclusão gordura na dieta nos teores de proteína do leite (VILELA et al., 2002; SCHROEDER et al., 2002; SALADO et al., 2004; BOKEN et al., 2005; ABUGHAZALEH; FELTON; IBRAHIM et al., 2007.; REGO et al., 2009) e houve efeito positivo com a inclusão de CLA na dieta (KAY et al., 2007; MEDEIROS et al., 2010). De acordo com Bargo et al. (2003) para vacas em pastagens, o uso de lipídeos na dieta resultou em ligeira queda no teor de proteína do leite. De acordo com Wu e Huber (2004) a redução no teor de proteína do leite pode ocorrer em virtude do aumento na produção de leite sem o aumento correspondente no fluxo de aminoácidos essenciais para a glândula mamária. O efeito positivo da suplementação com CLA (KAY et al., 2007; MEDEIROS et al., 2010) no teor de proteína do leite pode estar relacionado com a maior disponibilidade de energia para a síntese de proteína, já que ocorre queda no teor e na produção de gordura do leite.

Embora os teores não tenham sofrido efeito dos tratamentos, as produções de proteína bruta e de caseína do leite foram afetadas pelos tratamentos, com efeito para dose e interação de dose e GI (Tabela 11). A produção de caseína do leite também foi afetada pela suplementação com GI. Na Figura 7 são ilustradas as variações nos teores e produções de proteína e caseína do leite com relação ao tratamento utilizado, ao longo do período experimental.

Figura 7 - Teor (% - esquerda) e produção (kg.dia⁻¹ – direita) de proteína (acima) e caseína (abaixo) ao longo do período experimental

A maior dose de concentrado resultou em maiores produções de proteína e caseína do leite. Esses efeitos foram resultado principalmente dos efeitos na produção de leite

A suplementação com GI reduziu a produção de proteína e de caseína do leite nas vacas alimentadas com dose alta de concentrado, mas não teve efeito nas vacas alimentadas com dose baixa. Esse efeito ocorreu em virtude do efeito negativo da GI na produção de leite das vacas alimentadas com dose alta de concentrado.

A caseína é a fração nitrogenada do leite que mais diminui com o uso de gordura (DePETER e GRANT, 1992), como observado no presente estudo. A porcentagem de proteína, geralmente, é diminuída e sua produção permanece constante, aumentando em alguns casos (NRC, 2001). Palmquist e Mattos (2006) atribuíram a queda nos teores de proteína à diluição causada pelo aumento na produção de leite, ao desbalanço de proteína metabolizável e ainda à mudanças

metabólicas na glândula mamária. Essas mudanças estariam relacionadas à oxidação dos ácidos graxos que, quando ocorre na glândula mamária, resultariam em alterações no fluxo sanguíneo e na menor disponibilidade de aminoácidos para serem incorporados no leite. Wu e Huber (1994) discutiram a relação entre suplementação lipídica e proteína do leite e apresentaram possíveis fatores para as reduções, como a diminuição da disponibilidade de glicose, desenvolvimento de resistência à insulina, aumento na eficiência de produção de leite ou redução na somatotropina plasmática.

4.4.5 Teor e produção de lactose do leite

A lactose é um dissacarídeo, comumente chamado de açúcar do leite. Dentre os constituintes sólidos do leite, é o que menos responde à alterações na dieta dos animais. A lactose é sintetizada no complexo de Golgi e armazenada em suas vesículas, que se direcionam para a membrana apical liberando-a nos alvéolos da glândula mamária (SUTTON, 1989). Por ser osmoticamente ativa, a lactose não tem livre acesso para sair das vesículas do complexo de Golgi, por isso sua concentração no leite permanece constante ou muito pouco alterada, em comparação aos demais constituintes do leite bovino (SUTTON, 1989).

Poucos trabalhos avaliam o teor e produção de lactose, e quando o fazem a discussão é limitada, pois usualmente não são encontradas diferenças entre os tratamentos. Trabalhos conduzidos em pasto com suplementação, tiveram teores médios de lactose de 5,10 (SCHROEDER et al., 2002), 4,91 (SCHROEDER et al., 2003), 4,70 (WHITE et al., 2001) e 4,51 (MEDEIROS et al., 2010). Estes valores são superiores aos encontrados no presente estudo, onde não houve diferença entre os tratamentos.

Neste estudo houve efeito de dose de concentrado e interação entre dose e GI para produção de lactose. Os animais que receberam maior dose de suplementação apresentaram maiores valores e, neste mesmo tratamento, o uso de GI diminuiu sua produção. Aumentar o consumo de energia ou fornecer substratos que produzam nutrientes glucogênicos, como o propionato, pode estimular não somente a síntese de proteína do leite mas também a de lactose (REIS e COMBS, 2000).

4.4.6 Nitrogênio Uréico no leite – NUL.

A concentração de nitrogênio uréico no leite (NUL) tem sido utilizada para monitorar a nutrição protéica de vacas em lactação. A degradação da proteína no rúmen gera como metabólitos peptídeos, aminoácidos e a amônia, que serão utilizados pelos microrganismos para síntese de proteína e multiplicação celular (SANTOS, 2006). Quando há o acúmulo de amônia no rúmen, esta molécula passa facilmente pela parede ruminal em direção ao fígado, onde é convertida a uréia. A uréia formada pode ter diferentes destinos: excreção pelos rins e outros fluidos corporais, como o leite; ou ser reciclada, voltando para o rúmen ou saliva.

Tem sido demonstrado de forma consistente que existe correlação positiva entre o NUL e o NU plasmático (NUP) (GUSTAFSSON e PALMQUIST, 1993; BAKER; FERGUSON; CHALUPA, 1995; BRODERICK e CLAYTON, 1997; LUCCI et al., 2006; BRODERICK e HUHTANEN, 2007), podendo o primeiro ser utilizado como ferramenta por ser mais simples e menos invasiva para monitorar a adequação energia:proteína da dieta e a eficiência de uso do N pelos animais. O NUL também apresenta correlação positiva com a concentração de N na urina, podendo ser usado para monitorar a excreção de N no ambiente (BRODERICK e CLAYTON, 1997; JONKER; KOHN; ERDMAN, 1998).

Embora existam algumas recomendações para valores de NUL (entre 8,5 e 16 mg.dL⁻¹ – JONKER; KOHN; ERDMAN, 1998; KOHN; KALSCHEUR; RUSSEK-COHEN, 2002), as condições em que foram obtidas são diferentes e podem não refletir a realidade dos sistemas de produção em pastagens. Fatores como manejo, dieta, genética dos animais, dias em lactação, variações entre os animais e até a técnica de análise influenciam nos valores de NUL. Portanto, estes valores devem ser utilizados com cautela.

Os valores iniciais para a dose de 1:2,5 com e sem GI podem ser considerados baixos (7,4 e 8,6 mg.dL⁻¹, respectivamente). Entretanto, em experimento testando níveis protéicos na mesma área, Danés (2010) e Chagas, (2011) relataram valores de NUL de 8,34 e 6,44 mg.dL⁻¹, respectivamente, em vacas mantidas em pastagens com 18,6 e 15,5% de PB respectivamente suplementadas apenas com milho moído e mistura mineral, com 8,3% de PB. Esses animais produzindo em média 19,5 a 24 kg de leite dia⁻¹, respectivamente, não responderam em produção de leite e de proteína do leite à inclusão de farelo de soja ao concentrado.

No presente estudo, os valores de NUL encontrados foram superiores aos obtidos por Danés (2010) e Chagas (2011), com vacas de menor produção que nesses dois estudos. Com base nesses dados não deve ter havido limitação protéica para esses animais.

A suplementação com dose alta de concentrado reduziu o teor de NUL, em virtude da maior disponibilidade de energia no rúmen, menor valor numérico para N-NH₃ no fluido ruminal e maior produção de leite.

Broderick e Clayton (1997) encontraram correlação negativa entre a concentração de energia da dieta e NUL. Os resultados do presente estudo corroboram com resultados relatados na literatura com o uso de concentrado para animais mantidos em pastagens (REIS e COMBS, 2000; BARGO et al., 2002; FIKE et al., 2003). A suplementação energética fornecida para as vacas neste experimento pode ter aumentado a eficiência de uso do N no rúmen. Além da melhora na relação energia:proteína, a economia da energia que seria gasta para converter a amônia em uréia no fígado pode ter sido destinada para a produção de leite.

A suplementação com GI não teve efeito nos teores de NUL.

4.4.7 Contagem de células somáticas – CCS

A contagem de células somáticas (CCS) é um método bastante difundido para diagnosticar a presença de mastite subclínica e/ou clínica no rebanho, sendo utilizada rotineiramente como forma de controle desta infecção e da qualidade do leite produzido (RUPP e BOICHARD, 2000). Alguns autores recomendam que a CCS de animais saudáveis não ultrapasse 50.000 células.mL⁻¹ de leite (PAAPE et al., 2000), enquanto que para animais infectados o valor comumente ultrapassa 500.000 células.mL⁻¹ (BURVENICH; GUIDRY; PAAPE, 1995).

A CCS média do rebanho nacional ainda é considerada elevada. Dos produtores que fazem análise do leite produzido, 31% têm CCS entre 400 e 750.000 células.mL⁻¹ e 15% produzem leite com mais de 1.000.000 células.mL⁻¹ (De FREITAS, 2011). A Instrução Normativa 51 (IN-51) elaborada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) propõem que o leite produzido no Brasil seja padronizado. A padronização leva em consideração índices semelhantes ao leite produzido em países como a Nova Zelândia e EUA, com CCS máxima de

400.000 células.mL⁻¹, melhorando a qualidade do leite produzido para consumo interno e tornando-o mais competitivo no mercado internacional.

O leite produzido pelos animais experimentais se enquadra no padrão exigido pelo MAPA pois a média foi de 250.460 células.mL⁻¹, sem diferença entre os tratamentos.

4.5 Comportamento dos animais

Houve efeito de dose e interação entre dose e tempo com relação ao comportamento ingestivo das vacas. Na Tabela 12 são apresentados os resultados das avaliações, que estão divididas em pastejo, ruminação e ócio, durante o dia, noite e o total.

Tabela 12 – Comportamento dos animais, em minutos por dia ao longo do período experimental

Variáveis	Dose		GI		P		
	1:2,5	1:5	Sem	Com	D	GI	D x GI
PD	178,8 _{5,68}	203,8 _{5,55}	188,9 _{5,34}	194,5 _{5,86}	*	NS	NS
PN	167,6 _{10,15}	204,7 _{9,91}	196,4 _{9,54}	174,8 _{10,46}	*	NS	NS
PT	346,4 _{11,52}	408,5 _{11,25}	385,3 _{10,82}	369,3 _{10,87}	*	NS	NS
RD	144,5 _{5,02}	161,2 _{4,90}	149,4 _{4,71}	157,1 _{5,17}	*	NS	NS
RN	206,4 _{10,30}	180,6 _{10,06}	192,5 _{9,68}	194,2 _{10,61}	NS	NS	NS
RT	350,9 _{11,26}	341,8 _{10,99}	341,9 _{10,58}	351,3 _{11,60}	NS	NS	NS
OD	220,6 _{8,32}	180,6 _{8,13}	206,7 _{7,82}	192,9 _{8,58}	*	NS	NS
ON	174,5 _{9,24}	164,7 _{9,02}	160,0 _{8,67}	180,6 _{9,51}	NS	NS	NS
OT	394,8 _{12,37}	345,3 _{12,37}	366,7 _{11,61}	373,2 _{12,74}	*	NS	NS

1:2,5: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos; 1:5: 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos; GI: gordura inerte; PD: pastejo diurno; PN: pastejo noturno; PT: pastejo total; RD: ruminação diurna; RN: ruminação noturna; RT: ruminação total; OD: ócio diurno; ON: ócio noturno; OT: ócio total; Diurno compreende das 06:00 às 17:50 e noturno compreende das 18:00 às 05:50; D x GI: interação dose e gordura; NS: não significativo, P> 0,05; *: significativo, P< 0,05; Não houve interação entre dose e tempo, GI e tempo, dose, GI e tempo; Valores subscritos referem-se ao erro padrão da média.

Os animais que receberam suplementação em menor quantidade destinaram maior tempo para a atividade de pastejo e consumiram mais forragem conforme apresentado na Tabela 10. O tempo total gasto nesta atividade está relacionado ao consumo voluntário, gasto energético, estrutura do dossel e capacidade seletiva do

animal. Conhecer essas variáveis é essencial para determinar estratégias adequadas de manejo do pasto (Da SILVA, 2009).

Aumentos nas doses de concentrado diminuem o CMS de pasto e por consequência, o tempo gasto na atividade de pastejo (BARGO et al., 2003), assim como observado no presente estudo. Além do maior tempo gasto em pastejo para o tratamento com menor dose, houve menor tempo em ócio destes animais, indicando a capacidade de adequar as atividades.

Em estudos anteriores (VOLTOLINI, 2006; MARTINEZ, 2008, CHAGAS, 2010), os animais pastejaram mais tempo (434, 456 e 382 respectivamente) e o fizeram nos horários mais frescos do dia, ou seja, na parte da manhã e ao longo da noite. Os animais do presente estudo acabaram reduzindo o total de tempo gasto em pastejo (média de 346,4 x 408,5 para os tratamentos 1:2,5 e 1:5, respectivamente). Além disso, alteraram o horário de pastejo em comparação com os estudos citados acima, dedicando cerca de 50% do pastejo durante o dia e 50% a noite, provavelmente em virtude do horário de manejo (ordenha e fornecimento de concentrado) da manhã (03:30 às 6:00). A Figura 8 ilustra a distribuição média das atividades realizadas pelos animais ao longo do dia.

Figura 8 - Distribuição média das atividades dos animais ao longo de 24 horas

4.6 Parâmetros ruminais e sanguíneos

Na Tabela 13 são apresentados os dados de parâmetros ruminais. Não houve diferença nem interação entre os tratamentos .

Tabela 13 - Parâmetros ruminais de vacas em lactação mantidas em pastagem de tropical recebendo duas doses de suplementação com ou sem gordura inerte

Variáveis	1:2,5		1:5		P		
	Sem GI	Com GI	Sem GI	Com GI	D	GI	D x GI
pH	6,20 _{0,13}	6,10 _{0,14}	6,21 _{0,13}	6,32 _{0,13}	NS	NS	NS
N-NH ₃ , mg.dL ⁻¹	8,89 _{2,95}	12,91 _{4,00}	13,85 _{3,95}	13,47 _{3,28}	NS	NS	NS
Acetato, μmol.mL ⁻¹	46,33 _{1,15}	47,77 _{1,31}	47,67 _{1,15}	47,27 _{1,13}	NS	NS	NS
Propionato, μmol.mL ⁻¹	19,04 _{1,97}	19,46 _{2,24}	18,60 _{1,97}	16,59 _{1,94}	NS	NS	NS
Butirato, μmol.mL ⁻¹	9,60 _{1,05}	11,42 _{1,20}	11,29 _{1,04}	9,37 _{1,04}	NS	NS	NS
Isobutirato, μmol.mL ⁻¹	0,96 _{0,08}	1,11 _{0,09}	1,09 _{0,08}	0,93 _{0,08}	NS	NS	NS
Valerato, μmol.mL ⁻¹	1,02 _{0,08}	1,16 _{0,09}	1,08 _{0,80}	0,89 _{0,80}	NS	NS	NS
Isovalerato, μmol.mL ⁻¹	1,44 _{0,13}	1,65 _{0,15}	1,56 _{0,13}	1,36 _{0,13}	NS	NS	NS
Relação A:P	2,57 _{0,25}	2,68 _{0,29}	3,59 _{0,25}	3,04 _{0,25}	NS	NS	NS
DP, mmol/L							
Alantoína	11,59 _{1,13}	11,86 _{1,23}	9,24 _{1,12}	8,84 _{1,23}	NS	NS	NS
Ácido úrico	4,62 _{0,40}	3,26 _{0,43}	3,31 _{0,40}	3,05 _{0,43}	NS	NS	NS
Creatinina	3,53 _{0,44}	4,20 _{0,48}	3,58 _{0,44}	3,42 _{0,48}	NS	NS	NS
Relação A:C	3,36 _{0,23}	2,90 _{0,25}	2,83 _{0,23}	2,76 _{0,25}	NS	NS	NS

1:2,5: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos;

1:5: 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos;

N-NH₃: nitrogênio amoniacal; A:P: relação acetato : propionato; DP: derivados de purina; A:C: relação alantoína : creatinina; D: dose; GI: gordura inerte; D x GI: Interação entre dose e GI; NS: não significativo (P> 0,05). Valores subscritos referem-se ao erro padrão da média.

O pH dos animais experimentais pode ser considerado adequado por estar dentro da faixa recomendada (FURLAN; MACARI; FARIA FILHO, 2006) entre 5,5 e 7,0. Por se tratar de animais mantidos em pastagens, pode ser presumido que a ingestão de FDN efetiva está sendo suprida em quantidade adequada, conferindo ambiente ruminal propício às bactérias celulolíticas. Valores inferiores ao deste estudo podem facilmente ser encontrados na literatura, podendo ser atribuído à

espécie forrageira utilizada. Espécies forrageiras de clima temperado apresentam, em geral, teores de FDN menores que as forrageiras de clima tropical.

Embora não tenha havido diferença estatística, percebe-se que a concentração de N-NH_3 foi ligeiramente inferior nos tratamentos com maior dose de suplemento, indicando melhor eficiência de uso do N, corroborando com os valores numéricos de NUL (Tabela 11). Tem sido relatado em diversos estudos que o aumento na quantidade de suplemento para vacas mantidas em pastagens de clima temperado tem efeito positivo na diminuição das concentrações de N-NH_3 ruminal e NUL, indicando melhora na eficiência de uso do N (REIS e COMBS, 2000; BARGO et al., 2002; 2003). Isto ocorre em virtude dos teores elevados de PB com alta degradabilidade ruminal nessas pastagens, fazendo com o N-NH_3 seja gerado de forma mais rápida que sua utilização pelos microrganismos ruminais. O fornecimento de suplementos que são prontamente fermentáveis no rúmen, pode, neste caso, fornecer energia suficiente para que a população microbiana utilize o N-NH_3 disponível no ambiente ruminal (SORIANO; POLAN; MILLER, 2000). Entretanto, conforme relatado nos trabalhos de Martinez (2008), Romero (2008), Danés (2010) e Chagas (2010), a degradabilidade ruminal da proteína do capim elefante não é alta como a das plantas de clima temperado.

A ausência de efeito da suplementação com lipídeos na concentração ruminal de N-NH_3 está de acordo com os dados de diversos trabalhos revisados (SCHROEDER et al., 2002; 2003; SALADO et al., 2004; BOKEN et al., 2005).

As concentrações de AGV não apresentaram diferenças nem interações entre os tratamentos. Comparado a trabalhos disponíveis na literatura (REIS e COMBS, 2000; BARGO et al., 2002; SCHROEDER et al., 2002; 2003; SALADO et al., 2004; BOKEN et al., 2005), pode-se observar que a concentração de acetato está abaixo da maioria dos relatos, seja para trabalhos avaliando doses de concentrado ou para uso de lipídeos na dieta. A provável explicação pode ser o período de coleta, pois nos trabalhos revisados foram feitas várias coletas ao longo do dia e em alguns deles foram constatadas maiores concentrações de acetato ou de AGV totais no período da noite (considerado a partir das 18:00 – REIS e COMBS, 2000; MARTINEZ, 2008), enquanto que no presente estudo, a coleta foi única, cerca de 4 horas após o fornecimento do concentrado matinal e no último dia do período experimental. Além disso, os animais eram encaminhados ao piquete para pastejo

no intervalo entre o fornecimento do concentrado e a coleta e o consumo de pasto ou água podem ter causado algum efeito de diluição na concentração de AGV.

A concentração ruminal de propionato não diferiu entre os tratamentos apesar da diferença numérica ter sido ligeiramente maior para os tratamentos com maior fornecimento de concentrado, conforme relatos na literatura (SORIANO; POLAN; MILLER, 2000; REIS e COMBS, 2000; BARGO et al., 2002; 2003), resultando em menor relação numérica acetato:propionato. O fornecimento de maior quantidade de suplementos ricos em amido estimulam a produção de propionato pelas bactérias que fermentam carboidratos não fibrosos (SORIANO; POLAN; MILLER, 2000).

Quando lipídeos são utilizados na dieta são esperadas mudanças na relação acetato:propionato por estes afetarem as bactérias celulolíticas e metanogênicas, principalmente quando são utilizadas fontes de AG insaturados (PALMQUIST, 1988; JENKINS, 1993). Porém, neste experimento não foi constatado este efeito, assim como relatado por Schroeder et al. (2002; 2003), Salado et al. (2004) e Boken et al. (2005) para vacas em pastagens. Boken et al. (2005) também ressaltaram que o óleo de soja, além de alterar o padrão de AGV gerados, pode prejudicar a capacidade de hidrogenação dos microrganismos ruminais, alterar a rota deste mecanismo e formar maiores quantidades de isômeros do CLA que deprimem a gordura do leite.

Os AGV de cadeia ramificada têm sua importância, pois são utilizados para o crescimento de alguns microrganismos ruminais, usados para síntese de seus AG ou mesmo para síntese de aminoácidos (Van SOEST, 1994). Portanto, reduções destes AG podem resultar em redução nesta população.

A excreção urinária de derivados de purinas (DP – alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina) tem se constituído em técnica alternativa para estimar a produção de proteína microbiana por não ser invasiva. Esta técnica é baseada no princípio de que grande parte dos DP presentes na urina são provenientes dos ácidos nucléicos microbianos que seguem pelo trato digestivo (GONZALEZ-RONQUINO et al., 2003), sendo a alantoína o DP mais abundante em bovinos.

Foi demonstrado que uma única coleta ao longo do dia (spot) pode ser utilizada, ao invés de coleta total da urina, tornando o procedimento mais simples (VALADARES et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2001). Para isto, é necessário estimar a excreção de creatinina, um metabólito formado no músculo, excretado na urina e usado como marcador interno para predizer processos metabólicos (GONDA, 1995).

Sua produção e excreção diária são proporcionais ao peso do animal e não é afetada por variações na dieta (GONDA, 1995). Determinando a excreção diária de creatinina é possível obter a relação alantoína : creatinina e utilizar esta relação como um index da excreção total de alantoína na urina, excluindo a necessidade de coleta total de urina (GONDA, 1995).

Conforme os dados da Tabela 13, não houve diferença significativa para os DP, creatinina e relação alantoína:creatinina ($P > 0,05$), embora o valor de P para alantoína tenha sido de 0,08 para dose e para ácido úrico $P = 0,08$ e 0,06 para dose e gordura, respectivamente. O tratamento 1:2,5 apresentou tendência em aumentar a excreção de alantoína, sugerindo que maior quantidade de proteína microbiana foi produzida, embasando os resultados obtidos para produção de proteína do leite (Tabela 11) e sugerindo também melhor uso do nitrogênio no ambiente ruminal, corroborando com os dados de NUL e possivelmente com o $N-NH_3$. Estes resultados estão de acordo com relatos na literatura de que aumentos nos níveis de concentrado resultam em aumentos na excreção de DP (REIS et al., 2001; BARGO et al., 2002).

O uso da GI parece não ter afetado negativamente a produção de proteína microbiana, apesar de menores valores numéricos para a relação alantoína:creatinina, concordando também com os resultados da proteína do leite e NUL em que não houve efeito para o uso da GI.

Na Tabela 14 são apresentados as concentrações de glicose e ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma dos animais.

Tabela 14 - Parâmetros sanguíneos de vacas mantidas em pastagem tropical recebendo duas doses de concentrado, com ou sem gordura inerte

Variável	1:2,5		1:5		P					
	Sem	Com	Sem	Com	D	GI	T	D x GI	D x T	GI x T
Glicose, mg.dL ⁻¹	58,7	58,7	62,3	60,1	NS	NS	*	NS	NS	NS
	1,31	1,43	1,30	1,43						
AGNE, mmol.L ⁻¹	0,18	0,17	0,23	0,22	*	NS	NS	NS	NS	NS
	0,02	0,02	0,02	0,02						

1:2,5: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos;

1:5: 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos;

AGNE: ácidos graxos não esterificados; D: dose; GI: gordura inerte; D x GI: Interação entre dose e GI; NS: não significativo ($P > 0,05$). Não houve interação D x GI x T. Valores subscritos referem-se ao erro padrão da média.

Não houve efeito de tratamento, nem interações, para a glicose plasmática. Os valores descritos na Tabela 14 estão dentro do padrão fisiológico considerado normal para vacas leiteiras em pastagens (45 a 70 mg.dL⁻¹ – BARGO et al., 2002). O aumento na quantidade de suplemento poderia resultar em aumentos na glicose plasmática pelo maior aporte de propiônico chegando ao fígado e convertido a glicose no fígado, conforme relatado em estudo conduzido por Bargo e colaboradores (2002).

A suplementação com GI parece não ter efeitos sobre a glicose circulante (CHILLIARD et al, 1993), porém quando há substituição do milho pela gordura pode haver queda na produção de propionato e consequentemente da glicose produzida no fígado (SALADO et al., 2004), o que não foi observado no presente estudo.

O fornecimento da menor dose de suplementação resultou em maiores níveis plasmáticos de ácidos graxos não esterificados (AGNE), indicando que houve maior mobilização de reservas corporais para este grupo, corroborando com Bargo et al. (2002). Apesar disso, não foi verificado efeito de dose para as variáveis de peso corporal (Tabela 11). Variações em peso corporal não necessariamente refletem variações de condição corporal dos animais.

A avaliação da concentração plasmática de AGNE é ferramenta útil para monitorar as mudanças e variações nas reservas corporais (BARGO et al., 2002). Quando há restrição de energia durante a lactação, ocorrem mudanças no metabolismo animal, incluindo aumentos na lipólise, resultando em aumentos na concentração plasmática de AGNE e diminuição na circulação de glicose plasmática (KAY et al., 2007).

O uso de GI não resultou em mudanças nos níveis plasmáticos de AGNE, corroborando com estudos que avaliaram a adição de fontes de lipídeos na dieta de vacas leiteiras (SCHROEDER et al., 2002, 2003; SALADO et al., 2004; BOKEN et al., 2005).

Houve efeito de tempo ($P= 0,054$) na concentração de AGNE. No início do período experimental, a concentração de AGNE foi maior e diminuiu ao longo do tempo, indicando que no início do período a mobilização foi maior e quando a produção de leite diminuiu, a mobilização também diminuiu, fato também relatado por Boken et al. (2005).

4.7 Perfil de ácidos graxos

Na Tabela 15 estão descritos os perfis de ácidos graxos saturados (AGS, %) dos alimentos utilizados nas dietas experimentais.

Tabela 15 - Ácidos graxos saturados (AGS, % do total de AG) presentes nos ingredientes da dieta experimental

AGS	Forragem	Milho	Farelo de Soja	GI
4:0	-	0,01	-	-
6:0	-	0,02	-	-
8:0	-	0,02	-	-
10:0	-	0,01	-	0,07
11:0	-	0,006	-	0,008
12:0	0,33	0,11	0,02	0,98
13:0	0,29	0,006	-	0,005
13:0 anteiso	1,36	0,04	0,18	-
14:0	0,28	0,008	0,21	0,53
15:0	0,36	0,03	0,07	0,09
15:0 anteiso	0,02	-	0,02	0,48
16:0	18,4	-	19,97	17,62
17:0	0,22	-	0,16	0,16
18:0	2,30	-	4,54	4,66
20:0	0,18	1,30	0,24	0,02
21:0	0,008	-	0,06	0,48
22:0	0,59	-	0,34	0,29
23:0	0,13	-	0,03	-
24:0	0,74	-	0,27	0,18

GI: gordura inerte, produto comercial Megalac-E®

Nos ingredientes, a presença de AGS de cadeia curta (até 12 carbonos) é escassa, aparecendo em quantidade muito pequena no milho, enquanto que o C 16:0 é o AGS com maior presença na forragem, farelo de soja e GI.

São escassos os trabalhos em que foram caracterizados os ácidos graxos que compõem a fração lipídica de pastagens de clima tropical, porém, os valores relatados no presente estudo estão próximos aos encontrados em trabalhos com pastagens de clima temperado, confirmando a pequena participação de AGS,

destacando-se o C16:0, que variou de 12,38 a 20,30% (KAY et al., 2004; 2007; FLOWERS; IBRAHIM; ABUGHAZALEH, 2008; REGO et al., 2008; 2009).

Na Tabela 16 é apresentado o perfil de AGS (% do total de AG) do leite dos animais, durante o período experimental.

Tabela 16 – Ácidos graxos saturados (AGS, % do total de AG) presentes no leite de vacas em lactação recebendo duas doses de concentrado com ou sem gordura inerte

AGS	1:2,5		1:5		P		
	Sem GI	Com GI	Sem GI	Com GI	D	GI	D x GI
4:0	2,74 _{0,10}	2,32 _{0,10}	2,52 _{0,09}	2,58 _{0,09}	NS	NS	*
6:0	1,89 _{0,05}	1,44 _{0,05}	1,61 _{0,05}	1,44 _{0,05}	*	*	*
8:0	1,07 _{0,06}	0,75 _{0,06}	0,92 _{0,05}	0,77 _{0,06}	NS	*	NS
10:0	2,49 _{0,12}	1,52 _{0,12}	1,73 _{0,11}	1,45 _{0,11}	*	*	*
12:0	3,03 _{0,13}	2,00 _{0,13}	2,25 _{0,12}	1,89 _{0,13}	*	*	*
14:0	9,79 _{0,30}	7,67 _{0,30}	8,99 _{0,28}	8,03 _{0,29}	*	NS	NS
15:0	1,09 _{0,03}	1,09 _{0,03}	1,23 _{0,02}	1,21 _{0,03}	*	NS	NS
16:0	25,44 _{0,52}	23,62 _{0,52}	23,61 _{0,48}	23,66 _{0,50}	NS	*	NS
17:0	0,57 _{0,02}	0,61 _{0,02}	0,68 _{0,02}	0,65 _{0,02}	*	NS	NS
18:0	14,29 _{0,79}	16,82 _{0,80}	13,24 _{0,73}	14,00 _{0,76}	*	*	NS
20:0	0,16 _{0,009}	0,17 _{0,009}	0,15 _{0,009}	0,17 _{0,09}	NS	NS	NS

1:2,5: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos; **1:5:** 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos; **GI:** gordura inerte; **D:** dose; **D x GI:** interação dose e gordura; **NS:** não significativo, $P > 0,05$; *: significativo, $P < 0,05$; Não houve interação entre dose e tempo, GI e tempo, dose, GI e tempo; Valores subscritos referem-se ao erro padrão da média.

O perfil de AGS do leite foi afetado por dose de concentrado e pela suplementação com GI, havendo interações entre os tratamentos. Os principais AGS do leite são o 14:0, o 16:0 e o 18:0, que juntos representam quase 50% do total de AG do leite.

Na ausência de GI, a suplementação com dose alta de concentrado aumentou as concentrações lácteas dos AGS 4:0, 6:0, 10:0, 12:0 e 18:0, mas diminuiu as concentrações dos AGS 15:0 e 17:0. As concentrações dos AGS 14:0 e 16:0 não foram afetadas pela dose de concentrado em ausência de GI. Os efeitos positivos da dose alta de concentrado nas concentrações lácteas dos AGS 4:0, 6:0, 10:0, 12:0 não ocorreram em presença de GI na dieta.

A suplementação com GI reduziu de forma consistente as concentrações lácteas dos AGS 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 14:0 e 16:0, mas aumentou a concentração de 18:0.

Os AGS de cadeia curta e média presentes no leite são provenientes principalmente da síntese *de novo* na glândula mamária (PALMQUIST, 1984; CHILLIARD, 1993). A redução na síntese de gordura na glândula mamária é

esperada quando se utilizam lipídeos na dieta (CHILLIARD, 1993). O aumento de lipídeos exógenos transferidos para a glândula mamária causa diminuição na síntese *de novo* lá realizada, de forma a manter um equilíbrio (SALADO et al., 2004). Além disso, a inclusão de AG insaturados na dieta inibe a síntese *de novo* de AG de cadeia curta e média e aumenta a presença do C 18:0 (REGO et al., 2009).

Na Tabela 17 estão descritos os ácidos graxos insaturados (AGI) presentes nos ingredientes das dietas experimentais.

Tabela 17 - Ácidos graxos insaturados (AGI, % do total de AG) presentes nos ingredientes das dietas experimentais

AGI	Forragem	Milho	Farelo de Soja	GI
12:1	0,82	0,006	-	0,004
14:1 <i>cis</i> -9	-	-	-	0,18
15:1	4,98	15,45	0,02	-
16:1 <i>cis</i> -9	-	0,14	0,09	0,14
18:1 <i>cis</i> -9	1,70	0,94	12,61	21,16
18:1 <i>cis</i> -11	0,23	0,30	1,65	2,09
18:1 <i>cis</i> -12	0,21	0,04	1,15	0,95
18:1 <i>cis</i> -13	0,10	-	0,47	0,43
18:1 <i>trans</i> ¹	-	27,43	0,01	0,54
18:1 <i>trans</i> ²	0,02	-	0,28	3,75
18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	12,29	47,27	51,05	40,33
18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> 11	-	-	-	0,16
18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	-	-	-	0,78
18:2 <i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15	0,02	-	0,04	-
18:3 n 3	51,96	-	5,56	2,98
18:3 n 6	-	0,43	0,01	0,28
20:3 n 6	-	0,03	-	0,05

GI: gordura inerte, produto comercial Megalac-E®; ¹: soma de *trans*-6; *trans*-7; *trans*-8 e *trans*-9; ²: soma de *trans*-10; *trans*-11 e *trans*-12.

Os componentes da dieta experimental continham em sua grande parte AGI (> 70%), com destaque para o milho, com mais de 90% e para a GI, uma vez que o produto é proveniente da soja.

O capim elefante apresentou alto teor de 18:2 *cis*-9, *cis*-12 e principalmente de 18:3 n 3. A biohidrogenação incompleta desses AGI pode levar à formação de AG *trans*, com efeito negativo marcante no teor de gordura do leite (HARVATINE; BOISCLAIR e BAUMAN, 2008). Esse fato pode explicar teores baixos de gordura do leite de vacas mantidas em pastagens suplementadas com concentrado, mesmo com ingestão adequada de FDN de forragem.

Os valores relatados para AGI no capim elefante estão próximos aos encontrados em trabalhos com pastagens de clima temperado, confirmando a grande participação de AGI, destacando-se o C18:3 n-3, que variou de 40,76 a 55,80% (KAY et al., 2004; 2007; FLOWERS; IBRAHIM; ABUGHAZALEH, 2008; REGO et al., 2008; 2009).

Na Tabela 18 estão descritos os AGI presentes no leite.

Tabela 18 – Ácidos graxos insaturados (AGI, % do total de AG) presentes no leite de vacas em lactação recebendo duas doses de concentrado com ou sem gordura inerte

AGI	1:2,5		1:5		P		
	Sem GI	Com GI	Sem GI	Com GI	D	GI	D x GI
10:1	0,29 _{0,01}	0,19 _{0,01}	0,25 _{0,01}	0,17 _{0,01}	*	*	NS
12:1	0,15 _{0,03}	0,05 _{0,03}	0,06 _{0,03}	0,04 _{0,03}	NS	NS	NS
14:1 cis-9	0,99 _{0,06}	0,79 _{0,06}	0,89 _{0,05}	0,78 _{0,06}	NS	*	NS
16:1 cis-9	0,95 _{0,06}	0,95 _{0,06}	1,20 _{0,06}	1,02 _{0,06}	*	NS	NS
17:1	0,16 _{0,03}	0,19 _{0,03}	0,27 _{0,03}	0,25 _{0,03}	*	NS	NS
--18:1--							
cis-9	22,21 _{1,00}	24,7 _{1,00}	23,5 _{0,91}	23,55 _{0,95}	NS	NS	NS
cis-11	1,59 _{0,11}	1,70 _{0,11}	1,74 _{0,10}	1,94 _{0,11}	NS	NS	NS
cis-12	0,48 _{0,02}	0,50 _{0,02}	0,51 _{0,02}	0,61 _{0,02}	*	*	NS
cis-13	0,29 _{0,01}	0,36 _{0,01}	0,28 _{0,01}	0,36 _{0,01}	NS	*	NS
trans¹	0,43 _{0,05}	0,56 _{0,05}	0,40 _{0,04}	0,54 _{0,04}	NS	*	NS
trans²	2,21 _{0,23}	3,16 _{0,23}	3,81 _{0,21}	4,63 _{0,22}	*	*	NS
--18:2--							
cis-9, cis-12	1,33 _{0,08}	1,68 _{0,08}	0,86 _{0,07}	1,52 _{0,07}	*	*	*
Cis-9, trans-11	0,80 _{0,07}	1,08 _{0,07}	1,42 _{0,07}	1,54 _{0,07}	*	*	NS
trans-11, cis-15	0,07 _{0,008}	0,08 _{0,008}	0,06 _{0,008}	0,07 _{0,008}	NS	NS	NS
--18:3--							
n-3	0,38 _{0,02}	0,41 _{0,02}	0,42 _{0,02}	0,54 _{0,02}	*	*	*

1:2,5: 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos; 1:5: 1 kg de concentrado para cada 5 kg de leite produzidos; GI: gordura inerte; D: dose; D x GI: interação dose e gordura; NS: não significativo, P> 0,05; *: significativo, P< 0,05; Não houve interação entre dose e tempo, GI e tempo, dose, GI e tempo; Valores subscritos referem-se ao erro padrão da média.

O perfil de AGI do leite foi afetado tanto pela dose de concentrado quanto pela suplementação com GI, havendo interação entre os tratamentos para determinados AGI. Entretanto, a concentração do AGI mais abundante no leite, o 18:1 *cis*-9 não foi afetada pelos tratamentos.

A dose alta de concentrado reduziu os teores dos AGI 16:1 *cis*-9; 17:1 18:1 *trans*-10; 18:1 *trans*-11; 18:1 *trans*-12; 18:2 *cis*-9, *trans*-11 e 18:3 n3, independente da suplementação com GI. No caso dos AGI 18:1 *cis*-12 e 18:2 *cis*-9, *cis* 12, a suplementação com dose alta de concentrado reduziu a concentração desses AGI somente quando as vacas foram suplementadas com GI.

Uma possível explicação para a redução das concentrações lácteas dos diversos AGI acima com dose alta de concentrado seria o menor CMSf, rica em ácidos graxos insaturados.

A suplementação com GI aumentou as concentrações lácteas dos AGI 18:1 *cis*-3, 18:1 *trans*-6, 18:1 *trans*-7, 18:1 *trans*-8, 18:1 *trans*-9, 18:1 *trans*-10, 18:1 *trans*-11, 18:1 *trans*-12, 18:2 *cis*-9, *cis*-12, 18:2 *cis*-9, *trans*-11 e 18:3 n3 independente da dose de concentrado e aumentou a concentração do AGI 18:1 *cis* 12 somente na dose baixa de concentrado. Por outro lado as concentrações dos AGI 10:1 e 14:1 *cis* 9 foram reduzidas pela suplementação com GI.

Analisando a Tabela 17, nota-se que a fonte de GI utilizada no presente estudo apresenta mais de 44,6% de AGI com mais de duas insaturações, principalmente o C18:2 *cis*-9, *cis*-12. Conforme Harvatine; Boisclair e Bauman, (2008) alterações no ambiente ruminal, como altas quantidades de carboidratos fermentáveis, óleo ou ionóforos, modificam o metabolismo ruminal de AG através de efeitos complexos associados. Isso altera a população microbiana e, por consequência, as rotas da biohidrogenação dos AGPI (Figura 9) aumentando o fluxo de intermediários deste processo ruminal que alcançam a glândula mamária e são incorporados ao leite.

Figura 9 - Rotas da biohidrogenação ruminal do ácido linoléico e CLA sob condições de fermentação ruminal normal e alterada (Adaptado de Harvatine, Boisclair e Bauman, 2008)

O fornecimento de GI rica em C18:2 *cis*-9, *cis*-12 neste estudo possivelmente afetou o processo de biohidrogenação por não ser totalmente inerte, fazendo com que os intermediários deste AGI (C18:1 *trans*¹ e *trans*²) fossem aumentados na gordura do leite deste grupo de animais. Os isômeros C18:1 *trans* são reconhecidos por sua ação em deprimir a gordura do leite (HARVATINE; BOISCLAIR; BAUMAN, 2008), explicando, pelo menos em parte, o efeito depressor constatado na gordura do leite descrito na Tabela 11. O aumento no C18:2 *cis*-9, *cis*-12 no leite pode ser proveniente da passagem deste composto da GI para o intestino sem ter sido biohidrogenado no rúmen.

5 CONCLUSÕES

Para vacas leiteiras no terço médio de lactação e mantidas em pastagens tropicais, o fornecimento de 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite produzidos em comparação ao fornecimento de 1 kg para cada 5 kg de leite produzidos, resultou em aumento na produção de leite e melhorou sua composição, sem alterações no ambiente ruminal e parâmetros sanguíneos.

Já o fornecimento de sais de Ca de óleo de soja foi positivo apenas em aumentar a presença de AGI benéficos à saúde humana.

- 1) o fornecimento de concentrado na quantidade de 1kg para cada 2,5 kg de leite resulta em maior produtividade dos sistemas de produção, em virtude da maior produção de leite por vaca, associada à maior lotação dos pastos (menor CMSp), quando comparada à dose de 1 kg para cada 5 kg de leite;
- 2) quando se fornece 1 kg de concentrado para cada 2,5 kg de leite, a suplementação com fonte de gordura contendo óleo de soja na forma de sais de cálcio tem efeito negativo na produção de leite, no teor de gordura do leite e na produção de proteína do leite;
- 3) quando se fornece 1 kg de concentrado para cada 5,0 kg de leite, a suplementação com fonte de gordura contendo óleo de soja na forma de sais de cálcio não aumenta a produção de leite e de sólidos do leite.
- 4) a suplementação com dose alta de concentrado reduz a mobilização de gordura corporal;
- 5) a suplementação com fonte de gordura contendo óleo de soja na forma de sais de cálcio, não reduz a mobilização de gordura corporal;
- 6) a suplementação com dose alta de concentrado aumenta a eficiência de uso da proteína da pastagem;
- 7) a suplementação com fonte de gordura contendo óleo de soja na forma de sais de cálcio resulta em leite mais rico nos AGI benéficos à saúde humana.

REFERÊNCIAS

- ABUGHAZALEH, A.A.; FELTON, D.O.; IBRAHIM, S.A. Milk conjugated linoleic acid response to fish oil and sunflower oil supplementation to dairy cows manager under two feeding systems. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n.10, p. 4763-4769, 2007.
- ALLDEN, W. G.; WHITTAKER, M. C. D. The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. **Australian Journal of Agriculture Research**, Collingwood, v.21, p.755. 1970.
- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.7, p.1598-1624, 2000.
- ALVIM, M.J.; VILELA, D.; LOPES, R.S. Efeitos de dois níveis de concentrado sobre a produção de leite de vacas da raça Holandesa em pastagem de coast-cross (*Cynodon dactylum* (L.) Pers). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.26, p.967-975, 1997.
- AIZAHAL, O.; ODONGO, N.E.; MUTSVANGWA, T.; Or-RASHID, M.M.; DUFFIELD, T.F.; BAGG, R.; DICK, P.; VESSIE, G.; McBRIDGE, B.W. Effect of monensin and dietary soybean oil on milk fatty percentage and milk fatty acid profile in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.91, n.3, p.1166-1174, 2008.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 12nd. Ed., Washington, D.C. 1990.
- AROEIRA, L.J.M.; LOPES, F.C.F.; DERESZ, F.; VERNEQUE, R.S.; DEYRELL, M.S.; De MATOS, L.L.; MALDONADO-VASQUEZ, H. VITTORI, A. Pasture availability and dry matter intake of lactating crossbred cows grazing elephantgrass (*Pennisetum purpureum*, Schum.). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.78, n. 3-4, p.313-324, 1999.
- AROEIRA, L.J.M.; LOPES, F.C.F.; SOARES, J.P.G.; DERESZ, F.; VERNEQUE, R.S.; ARCURI, P.B.; De MATOS, L.L. Daily intake of lactating crossbred cows grazing elephant grass rotationally. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.6, p. 911- 917, 2001.
- BAKER, L.D.; FERGUSON, J.D.; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 11, p. 2424-2434, 1995.
- BALSABORE, M.A.A. **Valor alimentar do capim-tanzânia irrigado**. Piracicaba, 2002. 113 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) –: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2002.

BARGO, J.; MULLER, L.D.; DELAHOY, J.E.; CASSIDY, T.W. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.7, p. 1777–1792, 2002.

BARGO, J.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S.; DELAHOY, J.E. Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n.1, p.1–42, 2003.

BAUMAN, D.E.; HINRICHSEN, T.; TYBURCZY, C.; HARVATINE, K.J.; LOCK, A.L. Update on milk fat: identification of rumen biohydrogenation intermediates that inhibit synthesis. **Proceedings of Cornell Nutrition Conference**, Ithaca, 2006. p. 59-65.

BAUMGARD, L.H.; CORL, A.C.; DWYER, D.A.; SAEBO, A.; BAUMAN, D.E. Identification of the conjugated linoleic acid isomers that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v.278, n.1, p. R179-184. 2000.

BOKEN, S.L.; STAPLES, C.R.; SOLLENBERG, L.E.; JENKINS, T.C.; THACHER, W.W. Effect of grazing and fat supplementation on production and reproduction of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.88, n.12, p.4258-4272, 2005.

BREMMER, D.R.; OVERTON, T.R.; CLARK, J.H. Production and composition of milk from Jersey cows administered bovine somatotropin and fed ruminally protected amino acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.7, p.1374-1380, 1997.

BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.11, p. 2964-2971, 1997.

BRODERICK, G.; HUHTANEN, P. Application of milk urea nitrogen values. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 2007. Syracuse. **Proceedings...** Syracuse, 2007. p. 185-193.

BURVENICH, C.; GUIDRY, A.J.; PAAPE, M.J. Natural defence mechanisms of the lactating and dry mammary gland. In: INTERNATIONAL MASTITIS SEMINAR, 3., 1995, Tel Aviv. **Proceedings...** Tel Aviv: M. Lachmann Printers, 1995. p.3-13.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M.; LANA, R.P.; Da SILVA, J.F.C.; VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, E.S. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.2087-2098, 2000.

CARARETO, R. **Uso de uréia de liberação lenta para vacas alimentadas com silagem de milho ou pastagens de capim Elefante manejadas com intervalos fixos ou variáveis de desfolhas**. Piracicaba, 2007. 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba 2007.

CHAGAS, L.J. **Teor de proteína no concentrado de vacas de vacas no terço inicial de lactação, mantidas em pasto de capim elefante**. Piracicaba, 2011. 74p.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, Washington DC, v.8, p.130-132, 1962.

CHEN, X.B. **Excretion of purine derivatives by sheep and cattle and its use for the estimation of absorbed microbial protein** 1989. p. (Ph.D. Thesis.) - University of Aberdeen, 1989.

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

CHRISTIE, W. W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. **Journal of Lipid Research**, v.23, p.1072– 1075, 1982.

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

CORSI, M. Potencial das pastagens para produção de leite. In: BOVINOCULTURA LEITEIRA: FUNDAMENTOS DA EXPLORAÇÃO RACIONAL, 1986. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1986. p. 147-154

COUVREUR, S.; HURTAUD, C.; MARNET, P.G.; FAVERDIN, P.; PEYRAUD, J.L. Composition of milk fat from cows selected for milk fat globule size and offered either fresh pasture or a corn silage based diet. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n. 1, p.392-403, 2007.

DANÉS, M.A.C. **Teor de proteína no concentrado de vacas em lactação mantidas em pastagem de capim elefante**. Piracicaba, 2010. 117p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2010.

Da SILVA, C.V.; LANA, R.P.; CAMPOS, J.M.S.; De QUEIROZ, A.C.; LEÃO, M.I.; De ABREU, D.C. Consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes e desempenho de vacas leiteiras em pastejo com dietas com diversos níveis de concentrado e proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.7, p.1372-1380, 2009.

Da SILVA, S.C. Conceitos básicos sobre sistemas de produção animal em pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 25., 2009, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2009. p. 7-35.

Da SILVA, S.C. CORSI, M. Manejo do Pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 20., 2003, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2003. p. 155-186.

Da SILVA, S.C.; NASCIMENTO Jr., D. Avanços na pesquisa com plantas forrageiras tropicais em pastagens: características morfofisiológicas e manejo do pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, (S), p.121-138, 2007.

DAVISON, T.M.; JARRET, W.D.; CLARK, R. Effect of level of meat-and-bone meal and pasture type on milk yield and composition of cows grazing tropical pastures. **Australian Journal of Agriculture Research**, Collingwood, v.30, p. 451 455, 1990.

De ASSIS, A.G. Milk production under grazing in Brazil. In: INTERNACIONAL SIMPOSIUM ON ANIMAL PRODUCTION UNDER GRAZING, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Suprema, 1997. p.31-57.

De FREITAS, M.R. Evolução da CCS: situação atual e perspectivas. In: WORKSHOP MASTITE: COMO PRODUZIR LEITE COM < 400.000 CÉLULAS/mL?, 1., 2011, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2011. 1 CD-ROM.

DELGADO, I; RANDEL, P.F. Supplementation of cows grazing tropical grass swards with concentrates varying in protein level and degradability. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.72, p.995-1001, 1989.

DePETER, E.J.; GRANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.8, p.2043– 2070, 1992.

DERESZ, F. Produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu em pastagem de capim-elefante, manejada em sistema rotativo com e sem suplementação durante a época das chuvas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.1, p.197-204, 2001a.

DERESZ, F. Influência do período de descanso da pastagem de capim-elefante na produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.2, p. 461-469, 2001b.

DERESZ, F.; LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M. Influencia de estratégias de manejo em pastagem de capim-elefante na produção de leite de vacas Holandês x Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n.4, p.482-491, 2001.

DERESZ, F.; MATOS, L.L.; MOZZER, O.L.; MARTINS, C.E.; AROEIRA, L.J.M.; VERNEQUE, R.S.; COSER, A.C. Produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu em pastagem de capim elefante, com e sem suplementação de concentrado durante a época das chuvas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.55, n.3, p.334-340, 2003.

DERESZ, F.; PAIM-COSTA, M.L.; CÓSER, A.C.; MARTINS, C.E.; De ABREU, J.B.R. . Composição química, digestibilidade e disponibilidade de capim elefante cv. Napier manejado sob pastejo rotativo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.3, p.863-869, 2006.

DOMINGUES, F.N.; Da SILVA, J.F.C.; VÁSQUEZ, H.M.; VIEIRA, R.A.M.; FEROLLA, F.S.; LISTA, F.N. Desempenho ponderal de novilhas mestiças Holandês x Zebu submetidas a duas estratégias de suplementação mineral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n.2, p.343-349, 2008.

DUFFIELD, T.; PLAIZIER, J.C.; FAIRFIELD, A.; BAQQ, R.; VESSIE, G.; WILSON, J.; ARAMINI, J.; McBRIDE, B. Comparison of Techniques for Measurement of Rumen pH in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, n.1, p.59-66, 2004.

ERWIN, E.S.; MARCO, J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.44, n.9 , p.1768-1771, 1961.

FAEMG. **Diagnóstico da pecuária leiteira de Minas Gerais em 2005**: relatório de pesquisa. Belo Horizonte: FAEMG, 2006. 156p.

FAO/IAEA. **A training package: the technique for estimating microbial protein supply in ruminants based on determination of purine derivatives in urine**. Vienna: FAO/IAEA, 2003. 1CD-ROM.

FIKE, J.H.; STAPLES, C.R.; SOLLENBERGER, L.E.; MACOON, B.; MOORE, J.E. Pasture forages, supplementation rate and stocking rate effects on dairy cow performance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n.4, p.1268-1281, 2003.

FONTANELI, R.S. **Produção de leite de vacas holandesas em pastagens tropicais perenes no planalto médio do rio grande do sul**. 2005. 175 p. Tese (Doutorado na área de Produção animal) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

FREITAS Jr., J.E.; RENNÓ, F.P.; Dos SANTOS, M.V.; GANDRA, J.R.; MATURANA FILHO, M.; VENTURELLI, B.C. Productive performance and composition of milk protein fraction in dairy cows supplemented with fat sources. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.4, p.845-852, 2010.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. In.: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 1-23.

GRUMMER, R.R.; HATFIELD, M.L.; DENTINE, M.R. Acceptability of fat supplements in four dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.10, p.852-857, 1990.

GARRET, E.F.; PEREIRA, M.N.; NORDLUND, K.V.; ARMENTANO, L.E.; GOODGER, W.J.; OETZEL, G.R. Diagnostic Methods for the Detection of Subacute Ruminant Acidosis in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.6, p.1170-1178, 1999.

GONDA, H.L. **Nutritional status of ruminants determined from excretion and concentration of metabolites in body fluids** 1995.?????p. .(Thesis Ph.D) - Swedish University of Agricultural Science. Dep. Anim. Nutr. And Management. Uppsala, 1995.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analysis**. Washington, D.C:USDA, Agricultural Research Service,1970. p_ (USDA, Handbook, 379).

GONZALEZ-ROQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUARDA, J.A.; VICENTE, F. Purine derivative excretion in dairy cows: endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n.4, p. 1286-1291, 2003.

GUSTAFSSON, A.H.; PALMQUIST, D.L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.2, p.475-484, 1993.

HACK, E. **Variações estruturais e produção de leite na pastagem de capim-mombaça**. 2004. Dissertação (Mestrado na area de Produção Animal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

HARVATINE, K.J. ALLEN, M.S. Effect of fatty acid supplements on milk yield and energy balance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.89, n.3, p.1081-1091, 2006.

HARVATINE, K.J.; BAUMAN, D.E. Recent advances in milk fat depression: 1. Time course of milk fat depression and 2. Adipose tissue lipogenesis during milk fat depression. **Proceeding of Cornell Nutrition Conference for feed manufacturers**, Syracuse, 2007. p. 135-142.

HARVATINE, K.J.; BOISCLAIR, Y.R.; BAUMAN, D.E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. **Animal**, Cambridge, v.3, n.1, 2008.

INGVARTSEN, K.L.; ANDERSEN, J.B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.7, p.1573-1597, 2000.

JENKINS, T.C. Lipid Metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n.12, p. 3851-3863, 1993.

JOHNSON, C.R.; REILING, B.A.; MISLEVY, P.; HALL, M.B. Effects of nitrogen fertilization and harvest date on yield, digestibility, fiber, and protein fractions of tropical grasses. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.9, p.2439-2448, 2001.

JONKER J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAN, R.A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n.10, p. 2681–2692, 1998.

KAY, J.K.; MACKLE, T.R.; BAUMAN, D.E.; THOMSON, N.A.; BAUMGARD, L.H. Effect of supplement containing *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid on bioenergetic and milk production parameters in grazing dairy cows offered *ad libitum* or restricted pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n.2, p.721-730, 2007.

KELLEY, R.; PORTA, S. Feeding concentrate supplements for dairy cows. Dairy Research and Development Corporation Publication, Melbourne, 1993.

KIM, Y.J.; LIU, R.H.; BOND, D.R.; RUSSEL, J.B. Effect of linoleic acid concentration on conjugated linoleic acid production by *Butirivibrio fibrisolvens* A38. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v.66, p.5226-5230. 2000.

KOHN, R.A.; KALSCHEUR, K.F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n.1, p.227- 233, 2002.

KRISHNAMOORTHY, U.C.; MUSCATO, T.V.; SNIFFEN, C.J.; Van SOEST, P.J. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.65, n.1, p. 217-225, 1982.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; Van SOEST, P.J. Standardization of procedures of nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 347-358, 1996.

LIMA, M.L.P. et al. Concentração de nitrogênio uréico plasmático (NUL) e produção de vacas mestiças mantidas em gramíneas tropicais sob pastejo rotacionado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, p. 1616-1626, 2004.

LIMA, E.S.; Da SILVA, J.F.C.; VÁSQUES, H.M.; ARAÚJO, S.A.C.; ROCHA, T.C.; COSTA, D.P.B. Fracionamento de carboidratos e compostos nitrogenados de genótipos de capim elefante aos 56 dias de rebrota. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.11, p.1928-1933, 2008.

LISTA, F.N.; SILVA, J.F.C.; DETMANN, E.; VASQUEZ, H.M.; MALAFAIA, P.A.M. Estimação do valor energético da pastagem e simulação de parâmetros de desempenho produtivo de novilhas em pasto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.60, n.1, p.130-138, 2008.

LOFTEN, J.R.; CORNELIUS, S.G. Responses of supplementary dry, rumen-inert fat sources in lactating dairy cow diets. **The Professional Animal Scientist**, Champaign, v.20, n.6, p.461-469, 2004.

LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; RODRIGUEZ, N.M.; DERESZ, F.; SAMPAIO, I.B.M.; PACIULLO, D.S.C.; VITTORI, A. Efeito da suplementação e do intervalo de pastejo sobre a qualidade da forragem e consumo voluntário de vacas Holandês x Zebu em lactação em pastagem de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.56, n.3, p.355-362, 2004.

LUCCI, C.S.; VALVASORI, E.; PEIXOTO JÚNIOR, K.; FONTOLAN, V. Concentrações de nitrogênio na dieta, no sangue e no leite de vacas lactantes no período pós-parto. . **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.1, p.258-263, 2006.

MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D.; LIMA, A. Efeitos da alimentação sobre a composição do leite. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS: MANEJO ALIMENTAR DE BOVINOS, 9., 2011, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2011, p. 257-268.

MARTINEZ, J.C. **Avaliação de co-produtos na alimentação de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais durante a estação chuvosa e alimentadas no cocho durante a estação seca do ano.** 2008. 351 p.Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MEDEIROS, S.R.; OLIVEIRA, D.E.; McGUIRE, M.A.; BAUMAN, D.E.; LANNA, D.P. Effect of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid to grazing cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.93, n.3, p.1126-1137, 2010.

MERTENS, D.R. Analysis of fiber in feeds and its uses in feed evaluation and ration formulation. In: TEIXEIRA, J. C.; NEIVA, R. S. (Ed.). **Anais do Simpósio Internacional de Ruminantes**, Lavras, 1992. p. 1-32.

MULLER, L.D.; FALES, F.L. Supplementation of cool-season grass pastures for dairy cattle. In: GRASS FOR DAIRY CATTLE. CHERNEY J.H.; CHERNEY, D.J.R. (Ed.). New York:CABI Publishing, 1998. p. 335-374.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL. **Predicting feed intake of food-producing animals.** Washington, DC:National Academy Press, 1987. 85p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** 7th rev. ed. Washington, DC:National Academy Press, 2001.p 408.

NUSSIO, L.G.; De CAMPOS, F.P.; De LIMA, M.L.M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, A.G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes.** Jaboticabal: Funep, 2006. p. 183-228.

OLIVEIRA, A.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; RENNÓ, L.N.; De QUEIROZ, A.C.; CHIZZOTTI, M.L. Produção de proteína microbiana e estimativas de excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.5, p. 1621-1629, 2001.

OLIVEIRA, D.E.; MEDEIROS, S.R.; TEDESCHI, L.O.; AROEIRA, L.J.M.; SILVA, S.C. Estimating forage intake of lactating dual-purpose cows using chromium oxide and n-alkanes as external markers. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.64, n.2, p.103-110, 2007.

PAAPE, M.J. SHAFER-WEAVER, K.; CAPUCO, A.V. Immune surveillance of mammary gland secretion during lactation. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.480, p. 259-277, 2000.

PACIULLO, D.S.C.; DERESZ, F.; LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; MORENZ, M.J.F.; VERNEQUE, R.S. Disponibilidade de matéria seca, composição química e consumo de forragem em pastagem de capim-elefante nas estações do ano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.60, n.4, p.904-910, 2008.

PALMQUIST, D.L. Use of fat in diets for lactating dairy cows. In: Wiseman, J. (Ed.) **Fats in animal nutrition**. London: Butterwoths, 1984. p. 357-381.

PALMQUIST, D.L. The feeding value of fat. In: ORSKOV, E.R. **Feed Science**. Amsterdã: Elsevier Press, 1988. 293p.

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

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

PEDROSO, A.M.; MACEDO, F.L. Suplementação lipídica para vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS: MANEJO ALIMENTAR DE BOVINOS, 9., 2011, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2011. p. 191-216.

PERES, A.A.C. VÁSQUEZ, H.M.; SILVA, J.F.C.; SOUZA, P.M.; SOARES, C.S.; BARROS, S.C.W.; MORENZ, M.J.F.; DETMANN, E. Avaliação produtiva e econômica de sistemas de produção bovina em pastagens de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.57, n.3, p.367-373, 2005.

REGO, O.A.; ALVES, S.P.; ANTUNES, L.M.; ROSA, H.F.; ALFAIA, C.F.; PRATES, J.A.; CABRITA, A.R.; FONSECA, A.J.; BESSA, R.J. Rumen biohydrogenation-derived fatty acids in milk fat from grazing dairy cows supplemented with rapeseed, sunflower or linseed oils. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.92, n.9, p. 4530-4540, 2009.

REIS, R.A.; Da SILVA, S.C. Consumo de forragens. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, A.G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 79-109.

REIS, R.B.; COMBS, D.K. Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environmental and lactation performance of dairy cows grazing grass-legume pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.12, p.2888-2898, 2000.

REIS, R.B.; SAN EMETERIO, F.; COMBS, D.K.; SATTER, L.D.; COSTA, H.N. Effects of corn particle size and source on performance of lactating cows feeding direct-cut-grass-legume forage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.84, n.2, p.429-441. 2001.

REIS, R.B.; SOUSA, B.M. Suplementação de vacas leiteiras em pastagem manejada intensivamente. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 6., 2008. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 151-181.

RIBEIRO FILHO, H.M.N.; ZIMERMANN, F.C.; KOZLOSKY, G.V. Baixa dosagem de óxido de cromo para estimativa da produção fecal em bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.9, p. 2567-2573, 2008.

ROCHE, J.R.; SHEAHAN, A.J.; CHAGAS, L.M.; BERRY, D.P. Concentration supplementation reduces postprandial plasma ghrelin in grazing dairy cows: A possible neuroendocrine basis for reduced pasture intake in supplemented cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n.3, p.1354-1363, 2007.

ROMA JUNIOR, L.C.; MONTOYA, J.F.G.; MARTINS, T.T.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F. Sazonalidade no teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.61, n.6, p.1411-1418, 2009.

ROMERO, J.V. **Compostos nitrogenados e de carboidratos em pastos de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) cv. Cameron manejados com intervalos de desfolhação fixos e variáveis**. 2008. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

RUPP, R.; BOICHARD, D. Relationship of early first lactation somatic cell count with risk of subsequent first clinical mastitis. **Livestock Production Science**, v.62, n.2, p.169-180, 2000.

SALADO, E.E.; GAGLIOSTRO, G.A.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. Partial replacement of corn grain by hydrogenated oil in grazing dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, n.5, p.1265-1278, 2004.

SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In.: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 255-286.

SANTOS, F.A.P.; JUCHEM, S. O. Sistemas de produção de leite a base de forrageiras tropicais. In: SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE LEITE, 2001, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: Editora da Universidade De Passo Fundo, 2001. p. 22-36.

SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; VOLTOLINI, T.V.; NUSSIO, C.M.B.; Utilização da suplementação com concentrado para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE E LEITE, 5., 2003, Goiânia. **Anais ...** Goiânia: CBNA, 2003. p. 289-346.

SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; VOLTOLINI, T.V.; NUSSIO, C.M.B. Associação de plantas forrageiras de clima temperado e tropical em sistemas de produção animais de regiões subtropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM: PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTAGENS, 20., 2003, Piracicaba. **Anais ...** Piracicaba: FEALQ, 2003a. p. 215-246.

SANTOS, F.A.P.; PEDROSO, A.M.; MARTINEZ, J.C.; PENATI, M.A. Utilização da suplementação com concentrados para vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 5., 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 219-294.

SANTOS, F.A.P.; GALLO, M.P.C.; CHAGAS, L.J.; MACEDO, F.L.; DANÉS, M.A.C.; PEDROSO, A.M. Qualidade do leite produzido em sistemas de produção à base de pastagens. In: IV SUL LEITE: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL: LEITE SAUDÁVEL E SEM RISCOS AMBIENTAIS, 4., 2010, Maringá. **Anais...** Maringá: Sthampa, 2010. p. 37-71.

SANTOS, F.A.P.; DÓREA, J.R.R.; GOUVEA, V.N.; GALVANI, D.B. Uso de suplementação concentrada durante o ano todo. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 4., 2010, Estância de São Pedro. **Anais ...** Estância de São Pedro: CBNA, 2010a. p.363-374.

SANTOS, F.A.P.; DANÉS, M.A.C.; MACEDO, F.L.; CHAGAS, L.J. Manejo alimentar de vacas em lactação em pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 9., 2011, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2011. p. 119-158.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M.M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39(S), p.422-432, 2010.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**; version 9.1.3. Cary, Statistical Analysis Systems Institute, 965 p. 2003.

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**, Champaign, v.85, n.3, p.580-594, 2002.

SCHROEDER, G.F.; DELAHOY, J.E.; VIDAURRETA, I.; BARGO, F.; GAGLIOSTRO, G.A.; MULLER, L.D. Milk fatty acid composition of cows feed a total mixed ration or pasture plus concentrates replacing corn with fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n.10, p.3237-3248, 2003.

SILVA, J.F.C. Mecanismos reguladores de consumo. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, A. G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 57-77.

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

SOARES, J.P.G.; AROEIRA, L.J.M.; PEREIRA, O.G.; MARTINS, C.E.; VALADARES FILHO, S.C.; LOPES, F.C.F.; VERNEQUE, R.C. Estimativas de consumo e da taxa de passagem do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) sob pastejo de vacas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, (6S), p.2183-2191, 2001.

SORIANO, F.D.; POLAN, C.E.; MILLER, C.N. Milk production and composition, rumen fermentation parameters and grazing behavior of dairy cows supplemented with different forms and amounts of corn grain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.7, p. 1520-1529, 2000.

SUKHIJA, P.S.; PALMQUIST, D.L. Dissociation of Calcium Soaps of Long-Chain Fatty Acids in Rumen Fluid. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.7, p.1784-1787, 1990.

SUKHIJA, P.S.; PALMQUIST, D.L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.36, n.6, p.1202-1206, 1988.

SUTTON, J.D. Altering milk composition by feeding. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.10, p. 2801-2814, 1989.

SWAISGOOD, H.E. Review and update of casein chemistry. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n.10, p.3054-3061, 1993.

TAJIK, J.; NAZIFI, S. Diagnosis of subacute ruminal acidosis: a review. **Asian Journal of Animal Science**, v.5, n.2, p. 80-90, 2011.

TEIXEIRA, N.M., VALENTE, J. VERNEQUE, R.S. et al. Efeito do ajustamento para período de serviço anterior e corrente em avaliações genéticas para produção de leite na raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.28, n.2, p. 288-294, 1999.

THEURER, C.B.; HUBER, J.T.; DELGADO-ELORDUY, A.; WANDERLEY, R. Summary of steam-flaked corn sorghum grain for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n.9, p.1950-1959, 1999.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two stages technique for the "in vitro" digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, Kenilworth, v.18, p.104-111, 1963.

TROEGELER-MEYNADIER, A.; NICOT, M.C.; BAYOURTHE, C.; MONCOULON, R.; ENJALBERT, F. Effects of pH and concentrations of linoleic and linolenic acids on extent and intermediates of ruminal biohydrogenation in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n.12, p.4054-4063, 2003.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C.; CLAYTON, M.K. Effect of Replacing Alfalfa Silage with High Moisture Corn on Ruminal Protein Synthesis Estimated from Excretion of Total Purine Derivatives. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n.12, p.2686-2696, 1999.

Van SOEST, P.J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: Voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**, Albany, v.24, n.3, p.834-843, 1965.

Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1994. p.____

Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VENDRAMINI, J.M.B.; SOLLENBERGER, L.E.; ADESOGAN, A.T.; DUBEUX, J.C.B.Jr; ARTHINGTON, J.D. Protein fractions of Tifton 85 and Rye-Ryegrass due to sward management practices. **Agronomy Journal**, Madison, v.100, n.2, p.463-469, 2008.

VERBIC, J. Factors affecting microbial protein synthesis in the rumen with emphasis on diets containing forages. Viehwirtschaftliche Fachtagung. **BAL Gumpenstein**, v.29, p.1-6, 2002.

VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M.; De QUEIROZ, A.C. The influence of elephant-grass (*Pennisetum purpureum* Schum., Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.67, p.151-161, 1997.

VILELA, D.; ALVIM, M.J.; De CAMPOS, O.F.; REZENDE, J.C. Produção de leite de vacas holandesas em confinamento ou em pastagem de *coast-cross*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.25, n.6, p.1228-1244, 1996.

VILELA, D.; ALVIM, M.J.; De MATOS, L.L.; MATIOLI, J.B. Utilização de gordura protegida durante o terço inicial da lactação de vacas leiteiras em pastagem de *coast-cross*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.10, p.1503-1509, 2002.

VILELA, D.; FERREIRA, A.M.; RESENDE, J.C.; LIMA, J.A.; VERNEQUE, R.S. Efeito do concentrado no desempenho produtivo, reprodutivo e econômico de vacas da raça Holandesa em pastagem de *coast-cross*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n.2, p.443-450, 2007.

VOLTOLINI, T.V. **Adequação protéica em rações com pastagem ou cana-de-açúcar e efeito de diferentes intervalos entre desfolhas da pastagem de capim Elefante sobre o desempenho lactacional de vacas leiteiras**. 2006, 168p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

VOLTOLINI, T.V.; AS, TOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; CLARINDO, R.L.; PENATI, M.A.; IMAIZUMI, H. Características produtivas e qualitativas do capim-elefante pastejado em intervalo fixo ou variável de acordo com a interceptação da radiação fotossinteticamente ativa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.5, p.1002-1010, 2010.

WALDO, D.R. Effect of forage quality on intake and forage-concentrate interactions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n.2, p.617-631. 1986.

WALES, W.J.; KOLVER, E.S.; EGAN, A.R.; ROCHE, R. Effects of strain of Holstein-Friesian and concentrate supplementation on the fatty acid composition of milk fat of dairy cows grazing pasture in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n.1, p.247–255, 2009.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; PIERRE, R.S. A theoretically-base model for predicting total digestible nutrient values of a forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.39, p. 95-119, 1992.

WHITE, S.L.; BERTRAND, J.A.; WADE, M.R.; WASHBURN, S.P.; GREEN Jr, J.T.; JENKINS, T.C. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n.10, p.2295-2301, 2001.

WU, Z. HUBER, J.T. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating dairy cows: A review. **Livestock Production Science**, v.39, n.2, p.141-155, 1994.

ZHENG, H.C.; LIU, J.X.; YAO, J.H.; YUAN, Q.; YE, H.W.; YE, J.A.; WU, Y.M. Effect of dietary sources of vegetable oils on performance of high-yielding of lactating dairy cows and conjugated linoleic acids in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n.6, p.-2037, 2005.