Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Fontes de gordura alteram o desempenho e o metabolismo de vacas mantidas em pastagens tropicais

Jonas de Souza

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

Piracicaba
2014

Jonas de Souza
Zootecnista

Fontes de gordura alteram o desempenho e o metabolismo de vacas 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
2014

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

Souza, Jonas de
Fontes de gordura alteram o desempenho e o metabolismo de vacas mantidas em pastagens tropicais / Jonas de Souza. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.
163 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2014.
Bibliografia.

1. Marcadores 2. Sais de cálcio de óleo de palma 3. Sais de cálcio de óleo de soja I. Título

CDD 636.214
S731f

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

AGRADECIMENTOS

A minha família por me incentivar a estudar, estar sempre me apoiando e por entenderem a ausência durante o mestrado.

A Fernanda Batistel, pessoa muito especial que entrou na minha vida, pela ajuda, paciência, compreensão e amor dedicados a mim, que é muito mais que uma companheira, sempre me apoiou e ajudou em todas as etapas da realização desse trabalho.

Ao meu orientador Prof. Flávio Augusto Portela Santos pela orientação, paciência, incentivo, amizade e confiança durante o curso de mestrado.

Ao Prof. Alexandre Vaz Pires pela ajuda na cirurgia dos animais do metabolismo.

Ao Prof. Roberto Sartori Filho pela ajuda pessoal e de seu grupo nas coletas de biópsia da glândula mamária.

Ao Prof. Francisco Monteiro pela paciência e disponibilidade da implantação da metodologia em seu laboratório para análise do titânio.

Aos estagiários, Katiéli e Mateus, pela dedicação, responsabilidade, amizade e ajuda inestimável.

Aos amigos que fiz durante o mestrado (Cléo Fialho, Marília de Paula, Flávia Rocha, Vinícius Gouvêa, Carolina Brandani, Elisângela e Zé Alípio) pelo apoio e ajuda, em especial a Cristiane Sitta, sempre disposta a ajudar, e ao Diogo Fleury por sua amizade e por deixar o ambiente de trabalho descontraído.

Aos colegas e amigos que já passaram ou estão no NUTRIBOV (Vinícius, Fernanda Lopes, Humberto, Paraíba, Cristiane, João, Conçolo e Murilo).

A todos os funcionários do Departamento de Zootecnia que auxiliaram no projeto, em especial ao seu “Neco” e ao seu “Vagner” e ao seu “Laureano” pela

ajuda na fase de campo, e ao Carlos César, Nélia e a “Taninha” pela ajuda com as análises laboratoriais e por tornar o ambiente divertido.

Ao Dr. Jeffrey Firkins pela oportunidade de passar um período na The Ohio State University, pelos ensinamentos e exemplo de conduta profissional que muito contribuiu para minha formação.

À família Wenner (Benjamin, Amanda, Hannah e Betsy) por toda a ajuda e amizade durante minha estadia nos EUA, que não tenho palavras para retribuí-los.

A Tectron pela doação do Magnapac para a realização desse estudo.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pelo financiamento do projeto, bolsa regular no país e bolsa de pesquisa no exterior.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente ajudaram para a condução desse trabalho.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

RESUMO 7
ABSTRACT.....9
1 INTRODUÇÃO.....11
Referências 12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....15
2.1 Limitações da produção animal em pasto 15
2.2 Suplementação e limitações da suplementação lipídica 17
2.3 Justificativa e Objetivos..... 21
Referências 21
3 SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA PARA VACAS MANTIDAS EM PASTAGEM – META ANÁLISE.....27
Resumo 27
Abstract 28
3.1 Introdução..... 28
3.2 Material e Métodos..... 30
3.3 Resultados e Discussão 30
3.4 Conclusão..... 41
Referências 41
4 AVALIAÇÃO DE MARCADORES EXTERNOS PARA ESTIMATIVA DA PRODUÇÃO FECAL, CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DE VACAS EM PASTEJO 47
Resumo 47
Abstract 47
4.1 Introdução..... 48
4.2 Material e Métodos..... 49
4.3 Resultados e Discussão 54
4.4 Conclusão..... 65
Referências 65
5 FONTES DE GORDURA PARA VACAS EM INÍCIO DE LACTAÇÃO MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL SOBRE O DESEMPENHO AO LONGO DA LACTAÇÃO 69

Resumo 69
Abstract 70
5.1 Introdução 70
5.2 Material e Métodos 72
5.3 Resultados 82
5.4 Discussão 101
5.5 Conclusão 114
Referências 115
6 FONTES E DOSES DE GORDURA PARA VACAS EM LACTAÇÃO MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL SOBRE O DESEMPENHO, COMPOSIÇÃO DO LEITE E PARÂMETROS RUMINAIS 121
Resumo 121
Abstract 122
6.1 Introdução 122
6.2 Material e Métodos 124
6.3 Resultados e Discussão 134
6.4 Conclusão 159
Referências 159

RESUMO

Fontes de gordura alteram o desempenho e o metabolismo de vacas mantidas em pastagens tropicais

Objetivou-se avaliar a inclusão de fontes de gordura na forma de sais de cálcio na dieta sobre o desempenho e metabolismo de vacas em início e meio da lactação mantidas em pastagens tropicais. No Capítulo 3, foi realizada uma meta-análise para avaliar os efeitos da suplementação de gordura para vacas mantidas em pastagens sobre a produção e a composição do leite. A produção de leite aumentou com a suplementação de gordura, e a suplementação com fontes insaturadas deprimiu o teor de gordura do leite. No capítulo 4, objetivou-se comparar o uso do dióxido de titânio (TiO_2) como marcador externo em substituição ao óxido crômico (Cr_2O_3) para estimar a excreção fecal e calcular o consumo de forragem e a digestibilidade. A excreção fecal tendeu ser maior para os valores estimados pelo Cr_2O_3. O Cr_2O_3 superestimou a excreção fecal comparado com a coleta total de fezes. O consumo de forragem e o consumo de MS total foram superestimados pelo Cr_2O_3, enquanto não foram observadas diferenças entre os valores observados de consumo e estimados pelo TiO_2. A digestibilidade aparente da MS foi subestimada tanto pelo Cr_2O_3 quanto pelo TiO_2. No capítulo 5 objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação de vacas em início da lactação mantidas em pastagem tropical com diferentes fontes de gordura sobre o desempenho, composição do leite e variáveis produtivas ao longo da lactação. A suplementação de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) aumentou a produção de leite quando comparado com o grupo controle, porém foi inferior a produção dos animais suplementados com sais de cálcio de óleo de palma (SCOP). Apesar do aumento em produção de leite com SCOS, nesse tratamento o teor de gordura do leite reduziu significativamente quando comparado com o grupo controle e ao SCOP. Durante o período residual a produção do grupo que recebeu SCOP continuou maior e refletiu na produção ao longo de toda a lactação (7328 kg lactação^{-1}) comparado ao SCOS (6575 kg lactação^{-1}) e ao controle (6094 kg lactação^{-1}). No capítulo 6, objetivou-se avaliar a suplementação de duas fontes e duas doses de sais de cálcio de ácidos graxos sobre o desempenho, composição do leite, parâmetros ruminais e metabólicos e balanço energético de vacas no meio da lactação mantidas em pastagem tropical. A produção de leite foi afetada pela adição de gordura, sendo influenciada pela fonte e pela dose de gordura. O teor de gordura do leite foi influenciado pela fonte de gordura suplementada. O pH ruminal não foi afetado pelos tratamentos experimentais. A suplementação com SCOS prejudicou a degradação da fibra, reduziu a produção de AGV's, reduziu a síntese microbiana e a produção de gordura do leite quando comparado com a fonte de SCOP. Portanto, as estimativas de consumo e digestibilidade foram melhores preditas com o uso do dióxido de titânio como marcador. Além disso, a suplementação com sais de cálcio de óleo de palma aumentou a produção de leite na lactação, não reduziu o consumo e nem a degradação da fibra.

Palavras-chave: Marcadores; Sais de cálcio de óleo de palma; Sais de cálcio de óleo de soja

ABSTRACT

Sources of fat alters performance and metabolism of dairy cows grazing a tropical pasture

The objective of this study was to evaluate inclusion of different sources of fat as calcium salts in the diet on performance and metabolism of early lactation cows grazing tropical pastures. In Chapter 3, a meta-analysis was performed to evaluate the effects of fat supplementation to grazing dairy cows on milk yield and milk composition. Milk yield increased with fat supplementation, and supplementation with unsaturated sources depressed milk fat content. In Chapter 4, the objective was to compare the use of titanium dioxide (TiO_2) as an external marker to replace chromium oxide (Cr_2O_3) to estimate fecal excretion and calculate forage intake and digestibility. Fecal excretion tended to be greater for values estimated by Cr_2O_3. The Cr_2O_3 overestimated and TiO_2 tended to overestimate fecal excretion compared to total fecal collection. Forage intake and total DM intake were overestimated by Cr_2O_3, while no differences were observed between the observed values of consumption and estimated by TiO_2. The apparent DM digestibility was underestimated by both Cr_2O_3 and TiO_2. In the chapter 5, it was evaluated the effects of fed different sources of fat to early lactation cows (from 15 to 105 DIM) grazing a tropical pasture on production variables throughout lactation (until 280 DIM). Calcium salts of soybean oil (CSSO) increased milk yield compared to control, but was lower than the production of animals supplemented with calcium salts of palm oil (CSPO). Despite the increase in milk yield with CSSO, this treatment decreased milk fat content and yield when compared with control and CSPO. During the residual period (from 106 to 280 DIM) the group that received CSPO had greater milk yield and reflected in the greater milk yield throughout lactation (7328 kg lactation^{-1}) compared to CSSO (6575 kg lactation^{-1}) and the control (6094 kg lactation^{-1}). In chapter 6, the objective was to evaluate the supplementation with two sources (CSSO vs. CSPO) and two doses (400g vs 700g/day) of calcium salts of fatty to mid lactating dairy cows grazing a tropical pasture on performance, milk composition, ruminal and metabolic parameters and energy balance. Milk yield was increased by the addition of fat, being influenced by source and by dose. The milk fat was influenced by source of fat supplementation. The ruminal pH was not affected by experimental treatments. Supplementation with CSSO damaged the fiber degradation, reduced production of VFA 's, reduced microbial synthesis and the production of milk fat compared with the source of CSPO. In conclusion, DM intake and digestibility were better predicted with the use of titanium dioxide as a marker. Furthermore, supplementation with calcium salts of palm oil increased milk production in lactating without decreasing DM intake and degradation of the fiber.

Keywords: Markers; Calcium salts of palm oil; Calcium salts of soybean oil

1 INTRODUÇÃO

A produção de leite no Brasil está baseada principalmente em sistemas que exploram pastagens tropicais ao longo da maior parte do ano. Quando se aplica tecnologia, a produção de leite em pastagens é altamente competitiva em comparação com outras atividades agropecuárias em virtude da alta produção de leite por área com custos relativamente baixos (SANTOS et al., 2011). Entretanto, é comum o conceito equivocado que sistemas de produção em pastagens tropicais são necessariamente extensivos, capazes de explorar apenas animais de menor potencial de produção e com algum grau de sangue de animais zebuínos, enquanto que sistemas confinados são sinônimos de intensificação e a única maneira de explorar vacas especializadas de origem Europeia. A discussão quanto ao melhor sistema para a produção de leite no Brasil tem sido invariavelmente improdutiva, uma vez que é impossível estabelecer para o país como um todo um modelo ideal, único e padronizado, em virtude da grande diversidade das condições edafoclimáticas, sociais, culturais e econômicas vigentes, que propiciam e justificam a presença de diferentes sistemas de produção (SANTOS; JUCHEM, 2001). O sucesso da atividade leiteira está intimamente relacionado à aplicação de tecnologia e gerenciamento adequado do processo produtivo, e não ao fato do sistema de produção ser em pasto ou confinado.

Entretanto, é inquestionável que sistemas intensivos de produção de leite em pastagens podem apresentar custos mais baixos com alimentação (PEYRAUD; DELABY, 2001), menores investimentos em instalações, equipamentos e insumos, além de poderem estar associados com menor incidência de doenças metabólicas (GEHMAN et al., 2006), quando comparados com sistemas confinados.

Por outro lado, as pastagens, principalmente as de clima tropical não atendem às exigências nutricionais das vacas em lactação para altas produções, podendo resultar na mobilização excessiva de reservas energéticas corporais para garantir a produção de leite (BARGO et al., 2003). Desta forma, a suplementação é uma prática importante para potencializar a produção por animal e por área (SEMMELMANN et al., 2008).

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; 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).

Essa situação é agravada no início da lactação onde o déficit energético que é ocasionado pela limitação na ingestão de matéria seca, resulta em mobilização de reservas corporais para disponibilizar energia para mantença 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 (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 2001; SANTOS et al., 2011).

Por outro lado, suplementos ricos em carboidratos fermentáveis, quando fornecidos em doses altas para vacas em pastagens, podem desencadear distúrbios metabólicos, assim como podem prejudicar a digestão da fibra e o consumo de forragens (NRC, 2001). O aumento da densidade energética da dieta via adição de lipídios, em substituição parcial às fontes ricas em carboidratos fermentáveis pode ser estratégia eficiente e mais segura para aumentar a energia da dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais. Entretanto, as informações com vacas mantidas em pastagens tropicais recebendo suplementação lipídica são escassas. Vilela et al. (2002) relataram efeitos positivos da suplementação com gordura (sais de cálcio de óleo de palma) na produção de leite, aumentando a produção total de leite na lactação de vacas mantidas em pastagem.

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a inclusão de diferentes fontes de gordura na forma de sais de cálcio na dieta sobre o desempenho e metabolismo de vacas mantidas em pastagens tropicais.

Referências

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.

GEHMAN, A.M.; BERTRAND, J.A.; JENKINS, T.C. PALMQUIST, D. The effect of carbohydrate source on nitrogen capture in dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 2659-2667, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.

PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. Ideal concentrate feeds for grazing dairy cows responses to supplementation in interaction with grazing management and grass quality. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 2001. p. 203 - 220.

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.; 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.

SEMMELMANN, C.E.N.; PRATES, E.R.; GOMES, I.P.O.; BARCELOS, J.O.J. Suplementação energética ou energético-proteica para vacas leiteiras em pastagem de quicuio no planalto Sul de Santa Catarina. **Acta Scientia Veterineae**, Maringá, v. 36, p. 127-131, 2008.

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.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Limitações da produção animal em pasto

As pastagens são à base da dieta do rebanho bovino de países como o Brasil, Austrália, Nova Zelândia e Argentina em virtude da disponibilidade, alto potencial produtivo e adaptação aos diversos ecossistemas, e quando bem manejadas, são capazes de sustentar níveis satisfatórios de produção de leite, sobretudo nas épocas mais favoráveis do ano (GOMIDE et al., 2001; SCHROEDER et al., 2004). Quando se aplica tecnologia, a produção de leite em pastagens pode ser altamente competitiva em comparação com outras atividades agropecuárias em virtude da alta produção de leite por área com custos relativamente baixos (SANTOS et al., 2003).

Os níveis de produção relatados em pastagens de clima tropical estão na faixa de 12 a 14 kg de leite vaca dia^{-1} (DERESZ et al., 2003) e 22 a 24 kg de leite vaca dia^{-1} em pastagens de clima temperado (BARGO et al., 2003), sendo esses limites determinados pela capacidade de colheita da forragem, pelo conteúdo de fibra e pela digestibilidade da fibra (REIS; Da SILVA, 2006).

De maneira geral, as diversas espécies e cultivares de gramíneas tropicais não apresentam grandes diferenças quanto à sua composição bromatológica quando cultivadas na mesma área e colhidas no mesmo estádio 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 e baixos de proteína (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.

Assim, a principal limitação para altas produções individuais de vacas em pastagens é o consumo voluntário de MS pelo animal (SANTOS et al., 2005). Durante muito tempo considerou-se que o principal mecanismo regulador do

consumo de forragem de ruminantes em pastagens era a capacidade de enchimento do rúmen (SILVA, 2006). Porém, estudos 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; ANDERSEN, 2000).

O efeito de enchimento ocorre em função do grau de distensão do trato digestório, em especial do rúmen-retículo, causada pelo volume e peso da digesta. O volume depende da quantidade de alimento consumido e das taxas de digestão e de passagem (ALLEN, 2000; REIS; Da SILVA, 2006). A FDN foi apontada por alguns autores como o componente que apresenta correlação mais consistente com a ingestão de matéria seca (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; Da SILVA, 2006). Qualquer variação em alguma dessas variáveis influenciará a ingestão diária.

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 dia^{-1}, ou média de 2,37% do PC (Peso Corporal). Essa variação pode ser explicada por fatores relacionados ao animal e a diferentes práticas de manejo das pastagens. Como consequência, os sistemas baseados apenas na utilização de pastagens não atendem a demanda de nutrientes para altas produções individuais, evidenciando que a energia é o principal limitante a produção de leite e a suplementação

estratégica é necessária para obter-se níveis maiores de produção (NRC 2001; SANTOS et al., 2005).

2.2 Suplementação e limitações da suplementação lipídica

Os suplementos energéticos mais utilizados para animais mantidos em pastagens são grãos de cereais. Pastagens com alta qualidade e bem adubadas apresentam alto teor de proteína, que associados à suplementação com carboidratos podem maximizar a síntese de proteína microbiana no rúmen. No entanto, altas quantidades de carboidratos rapidamente fermentáveis podem reduzir o pH ruminal, a digestão ruminal da fibra e aumentar o risco de acidose. Com isso tem sido proposta a suplementação de lipídios como forma de elevar a densidade energética das dietas, sem acréscimo na quantidade de concentrado com elevada proporção de carboidratos rapidamente fermentados, para maximizar a produção de leite de vacas mantidas em pastagens (SANTOS; SOUZA; BATISTEL, 2012).

Vários estudos têm sido desenvolvidos para avaliar o uso de lipídios na dieta de vacas em lactação para atender suas exigências energéticas. As fontes de lipídios 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 cálcio, que, comumente são chamados de “gordura protegida” da degradação ruminal ou gordura inerte, por possuírem a característica de não interferir, ou interferir em menor proporção, na atividade microbiana ruminal (PALMQUIST; MATTOS, 2006).

O uso da suplementação lipídica pode trazer benefícios especialmente para vacas no início de lactação, visto que essas têm limitação na ingestão de matéria seca e, por este ser um período de grande necessidade de nutrientes, apresentam balanço energético negativo (NRC, 2001). Nessa fase da lactação há considerável mobilização de reservas corporais para suprir suas demandas energéticas para mantença 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 (ONETTI; GRUMMER, 2004).

Quando esses animais são mantidos em pastagens, principalmente em pastagens de clima tropical, o problema pode ser agravado, já que neste caso o consumo 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 (SCHROEDER et al., 2004).

Vários estudos revisados por Onetti e Grummer (2004) e Rabiee et al. (2012) relataram benefícios de suplementar gordura para vacas em lactação. Entre as vantagens pode-se citar:

1) Aumento da densidade energética da dieta, pois as gorduras apresentam mais energia líquida de lactação que carboidratos e proteínas.
2) Acréscimo da eficiência energética em função das gorduras apresentarem menor incremento calórico e perdas de energia na forma de calor, metano e pela urina.
3) Redução dos riscos de acidose e melhoria do balanço energético podendo favorecer a produção, o desempenho reprodutivo e a saúde dos animais.
4) Modificação do perfil lipídico do leite com o acréscimo de ácidos graxos insaturados e em especial do CLA, que apresenta características benéficas à saúde humana.

Apesar dos benefícios relatados, a adição de lipídios pode causar efeitos negativos na fermentação ruminal, especialmente quando incluído em dose acima de 7% da MS da dieta (PALMQUIST; MATTOS, 2006). Além disso, se a fonte de lipídios for rica em ácidos graxos poli-insaturados, a degradação de carboidratos fibrosos pode ser reduzida drasticamente, mesmo que a dieta contenha menos de 6% de gordura suplementar (JENKINS, 1993). O efeito negativo da redução na digestão de fibra é acompanhado pela menor produção de ácidos graxos voláteis, especialmente acetato, tendo como único aspecto positivo a diminuição na produção de metano e hidrogênio (JENKINS et al., 2008). 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 fibrosos. Vários mecanismos foram propostos para explicar os efeitos tóxicos dos lipídios sobre o metabolismo microbiano, incluindo o recobrimento de partículas, modificação da população ruminal e redução da disponibilidade de cálcio necessário aos microrganismos. Dentre os mecanismos,

o recobrimento de partículas dificultando à aderência microbiana as partículas de alimento e efeito tóxico direto por alterar a função da membrana plasmática microbiana são as hipóteses mais aceitas para a redução da digestão da fibra em função da suplementação com lipídios insaturados (JENKINS, 1993).

Para contornar a ação inibitória dos ácidos graxos insaturados e ácidos graxos livres, os microrganismos ruminais realizam o processo de bio-hidrogenação. De maneira geral, a bio-hidrogenação envolve a conversão dos ácidos graxos insaturados a saturados por meio de diversos processos de isomerização e hidrogenação, em diferentes vias e mecanismos, que dependerão do ambiente ruminal e da população microbiana (HARVATINE; BAUMAN, 2007). A lipólise precede a bio-hidrogenação e consiste do processo pelo qual os lipídios sofrem ação de lipase microbianas (PALMQUIST et al., 2005). Estas enzimas hidrolisam as ligações do tipo “éster” e liberam ácidos graxos livres. Dentre os diferentes tipos de microrganismos ruminais, as bactérias são consideradas os principais agentes neste processo (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997). Após estarem livres de sua forma esterificada, os ácidos graxos insaturados são submetidos à bio-hidrogenação, processo também catalisado por enzimas microbianas. Esta ação converte os ácidos insaturados para saturados e, assim, determina o alto grau de saturação dos ácidos graxos encontrados nos produtos de ruminantes quando comparados aos de não ruminantes e plantas (LOCK; BAUMAN, 2004). Na sua fase final, os ácidos graxos formados reagem com íons de cálcio presentes no ambiente ruminal, formando os sais de cálcio, que são inertes no rúmen e não prejudicam a ação dos microrganismos ruminais, principalmente quanto à digestão da fibra.

A taxa de bio-hidrogenação se eleva com o grau de insaturação dos ácidos graxos (BEAM et al., 2000). Na maioria das dietas, a taxa de bio-hidrogenação do ácido linoleico e linolênico varia entre 70 e 95%, e 85 e 100%, porém essa taxa reduz-se quando há fornecimento de dietas ricas em concentrado. Segundo Bauman et al. (2003) isso ocorre devido à queda do pH ruminal e, consequentemente, à inibição da lipólise microbiana.

No entanto, altas concentrações de ácidos graxos livres insaturados e poli-insaturados no ambiente ruminal podem resultar em um processo incompleto de bio-hidrogenação, sendo que 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 intermediários é o baixo pH, que, associado à alta concentração de ácidos graxos insaturados, formarão intermediários trans-10 ao invés de trans-11 (JENKINS et al., 2008; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Alguns ácidos graxos *trans*, intermediários da bio-hidrogenação, que seguem adiante no trato gastrintestinal 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., 2002) e recentemente foram reconhecidos o CLA trans-9, cis-11 e o CLA cis-10, trans-12 (BAUMAN et al., 2006). A ação do CLA trans-10, cis-12 que resultam na queda da gordura, ocorre em função de uma diminuição da expressão de enzimas lipogênicas importantes como a Acetil-CoA Carboxilase (ACC), Ácido Graxo Sintetase (AGS), Estearoil-CoA Dessaturase (ECD) e Lipoproteína Lipase (LPL) (PIPEROVA et al., 2000; BAUMGARD et al., 2002) que sintetizam ácidos graxos de cadeia curta e média na glândula mamária.

Dessa forma, com o objetivo de minimizar os efeitos negativos dos lipídios sobre a microbiota ruminal, vários formas de proteção foram desenvolvidas, dentre elas os sais de cálcio com o propósito de minimizar esses efeitos negativos da suplementação lipídica. Esses são produzidos a partir da hidrólise de diferentes óleos vegetais (palma, soja, entre outros) e posterior combinação com cálcio, formando sais e elevando o ponto de fusão do produto final (LOFTEN; CORNELIUS, 2004). Alguns sais de cálcio são estáveis no rúmen em pH de até 6,5, outros se dissociam com maior facilidade. Assim, os ácidos graxos presentes nos sais de cálcio serão dissociados apenas em ambiente ácido, encontrado no abomaso e absorvidos no trato posterior.

Sukhija e Palmquist (1990) mostraram que a estabilidade dos sais de cálcio 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 cálcio 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.

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 cálcio ou outras formas, como óleo ou sementes de oleaginosas. Para animais em pastagens tropicais os trabalhos são

ainda mais escassos, sendo que não se sabe as respostas de vacas a diferentes fontes e doses de gordura.

2.3 Justificativa e Objetivos

Em pastagens tropicais bem manejadas, fertilizadas com doses altas de N e com teores elevados de proteína, 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 e em virtude dessas limitações vacas em início de lactação podem ter um balanço energético mais acentuado, quando mantidas em pasto. O uso de lipídios para vacas em lactação pode se constituir em estratégia para aumentar a ingestão de energia de vacas no início de lactação mantida em pastagens tropicais, sem aumentar a quantidade ingerida de CNF, reduzindo riscos de acidose ruminal.

Objetivou-se avaliar o efeito de fontes e teores de sais de cálcio de ácidos graxos sobre o desempenho e metabolismo de vacas em lactação mantidas em pastagem tropical. Além disso, foi testar um marcador externo alternativo ao óxido crômico para estimativas de consumo de forragem de vacas em pastejo.

Referências

ABUGHAZALEH, A.A.; HOLMES, L.D. Diet supplementation with fish oil and sunflower oil to increase conjugated linoleic acid levels in milk fat of partially grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 2897-2904, 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.

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.; HARVATINE, K.J.; LOCK, A.L. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, Gainesville, v. 31, p. 299-319, 2011.

BAUMAN, D.E.; PERFIELD, J.W.; DE VETH, M.J.; LOCK, A.L. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 65., Ithaca, 2003. **Proceedings…** Ithaca: Cornell, 2003. p. 175-189.

BAUMAN, D.E.; HINRICHSEN, T.; TYBURCZY, C.; HARVATINE, K.J.; LOCK, A.L. Update on milk fat: identification of rumen biohidrogenation intermediates that inhibit syntesis. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE, 68., Ithaca, 2006. **Proceedings…** Ithaca: Cornell, 2006. p. 59-65.

BAUMGARD, L.H.; MATITASHVII, E.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 2155-2163, 2002.

BEAM, T.M.; JENKINS, T.C.; MOATE, P.J.R.; KOHN, A.; PALMQUIST. D.L. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 2564-2573, 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.

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.

DAVISON, T.M.; VERVOORT, F.P.; DUNCALFE, F. Responses to a long-chain fatty acid supplement fed to dairy cows at two stages of lactation. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Sidney, v. 31, p. 467–470, 1991.

De PETERS, E.J.; CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 75, p. 2043-2070, 1992.

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.

GEHMAN, A.M.; BERTRAND, J.A.; JENKINS, T.C. PALMQUIST, D. The effect of carbohydrate source on nitrogen capture in dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 2659-2667, 2006.

GOMIDE, J.A.; WENDLING, I.J.; BRAS, S.P.; QUADROS, H.B. Consumo e produção de leite de vacas mestiças em pastagem de *Brachiaria decumbens* manejada sob duas ofertas diárias de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 30, p. 1194-1199, 2001.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Org.). **The rumen microbial ecosystem**. 2nd ed. New York: Blackie Academic & Professional, 1988. p. 380–425.

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. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 69., 2007, Ithaca. **Proceedings…** Ithaca: Cornell 2007. p. 135-142.

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.

JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J.; MOSLEY, E.E. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 397-412, 2008.

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.

KING, K.R.; STOCKDALE, C.R.; TRIGG, T.E. Influence of high energy supplements containing fatty acids on the productivity of pasture-fed dairy cows. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Sidney, v. 30, p. 11–16, 1990.

LOCK, A.L.; BAUMAN, D.E. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. **Lipids,** Mississippi, v. 39, p. 1197–1206, 2004.

LOCK, A.L.; PRESEAULT, C.L.; RICO, J.E.; DELAND, K.E.; ALLEN, M.S.; Feeding a C16:0-enriched fat supplement increased the yield of milk fat and improved conversion of feed to milk. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 96, p. 6650-6659, 2013.

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.

MACEDO, F.L. **Doses de concentrado com ou sem gordura inerte na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais.** 2012. 121 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

MURPHY, J.J.; CONNOLLY, J.F.; MCNEILL, G.P. Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soyabeans and rapeseeds to dairy cows at pasture. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 44, p. 13–25, 1995.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.

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

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

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.

PALMQUIST, D.L.; LOCK, A.L.; SHINGFIELD, K.J.; BAUMAN, D.E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. **Advanced Food Nutrition Research**, Amsterdam, v. 50, p. 179–217, 2005.

PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. Ideal concentrate feeds for grazing dairy cows responses to supplementation in interaction with grazing management and grass quality. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 2001. p. 203 - 220.

PIANTONI, P.; LOCK, A.L.; RICO, D.; ALLEN, M.S. Palmitic acid increased yields of milk and milk fat and nutrient digestibility across production level of lactating cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 96, p. 7143-7154, 2013.

PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKENTAL, I.; MILLS, E.E.; SAMPUGNA, J.; YURAWECZ, M.P.; FRITSCHE, J.; KU, K.; ERDMAN, R.A. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. **Journal of Nutrition**, London, v. 130, p. 2568–2574, 2000.

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

ROGERS, G.; ROBINSON, I. Fatty acid calcium soaps as supplement for grazing dairy cows. **Australian Animal of Production**, Sidney, v. 17, p. 459-465, 1988.

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.; SOUZA, J.; BATISTEL, F. Uso intensivo de pastagem para produção de leite. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO DE RUMINANTES NO CERRADO, 1., 2011, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: FAMEV, UFU, 2012. p. 161-208.

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.

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.; 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.

SCHROEDER, G.F.; GAGLIOSTRO, G.A.; BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; MULLER, L.D. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. **Livestock Production Science,** Amsterdam, v. 86, p. 1-18, 2004.

SEMMELMANN, C.E.N.; PRATES, E.R.; GOMES, I.P.O.; BARCELOS, J.O.J. Suplementação energética ou energético-proteica para vacas leiteiras em pastagem de quicuio no planalto Sul de Santa Catarina. **Acta Scientia Veterineae**, Maringá, v. 36, p. 127-131, 2008.

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

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.

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.

3 SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA PARA VACAS MANTIDAS EM PASTAGEM – META ANÁLISE

Resumo

Objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação lipídica para vacas mantidas em pastagens sobre a produção e composição do leite por meio de uma análise meta-analítica. Foram revisados 20 trabalhos com animais em pastejo, apenas 2 conduzidos com plantas tropicais. Dos trabalhos revisados, 9 foram realizados com vacas no terço médio de lactação (considerado a partir de 120 dias em lactação) e 11 com animais em início de lactação. Em 8 trabalhos foram utilizadas fontes insaturadas de gordura (considerado quando o perfil continha > 55% de lipídios insaturados) e 12 suplementaram fontes saturadas. No total, o desempenho de 557 vacas foi avaliado, e as doses de gordura variaram de 200 a 1000 g por dia. Os resultados de produção de leite, teor de gordura, teor de proteína, produção corrigida para 4% de gordura e consumo foram avaliados. Os trabalhos foram submetidos a uma análise meta-analítica, de acordo com (St-PIERRE, 2001). As principais forragens utilizadas foram o azévem (*Lolium multiflorum*), alfafa (*Medicago sativa*) e trevo branco (*Trifolium repens*). Dentre as fontes de gordura insaturada testadas, as principais fontes foram o óleo de soja e os sais de cálcio de óleo de soja, e as saturadas compreenderam os sais de cálcio de óleo de palma e as gorduras hidrogenadas. A produção de leite média dos trabalhos compilados foi de 22,7 kg de leite vaca dia^{-1}. A suplementação com lipídios permitiu um aumento (P= 0,02) médio de 1,46 kg de leite vaca dia^{-1} em comparação com o controle. Além disso, a produção de leite foi crescente com as doses de gordura, que variaram de 200 a 1000 g dia^{-1}. A adição de fonte saturada permitiu um acréscimo médio de 1,55 kg de leite vaca dia^{-1} em comparação ao controle (P= 0,01). As fontes insaturadas também permitiram acréscimo médio da produção de leite de 1,26 kg de leite vaca dia^{-1} em comparação ao controle (P= 0,03). Em geral o teor de gordura do leite não foi afetado pela adição de gordura (P> 0,05), porém houve diferenças entre as fontes. A adição de fontes insaturadas deprimiu o teor de gordura em 0,20 unidades percentuais (P= 0,01), e o efeito foi decrescente, mas não linear. Em contrapartida, a adição de fontes saturadas de gordura promoveu acréscimo linear do conteúdo de gordura do leite, com aumento médio de 0,26 unidades percentuais no teor de gordura (P= 0,01). Houve queda no teor de proteína do leite com a suplementação de gordura, independentemente da fonte utilizada. A adição de fontes saturadas de gordura promoveu acréscimo linear da produção de leite corrigida para 4% de gordura, com aumento médio de 1,71 kg de leite dia^{-1} (P= 0,01). Em contrapartida, houve tendência (P=0,09) da suplementação com fontes insaturadas promoverem decréscimo da produção de leite corrigida. Portanto, a produção de leite e a composição do leite foram afetadas pela suplementação lipídica, porém os resultados são influenciados pela fonte de gordura fornecida.

Palavras-chave: animais em pastejo, lipídios, meta- análise

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of fat supplementation on milk production and milk composition of grazing dairy cows by a meta- analysis. Twenty papers were reviewed with grazing animals, and only 2 were conducted with tropical pastures. Nine studies were conducted with mid-lactating cows (120 days in milk) and 11 with early lactation cows. Unsaturated fat sources (considered when the profile contained > 55 % unsaturated lipids) were fed in 8 studies and 12 supplemented saturated sources. A performance of 557 cows was evaluated, and fat intake ranged from 200 to 1000 g per day. The results of milk yield, fat content, protein content, 4% fat-corrected milk. The papers were submitted to a meta-analysis according to (St-Pierre , 2001). The main forage used was ryegrass (*Lolium multiflorum*), alfalfa (*Medicago sativa*) and white clover (*Trifolium repens*). Soybean oil and calcium salts of unsaturated fatty acids were the main sources of unsaturated fat used, whereas saturated fat sources were calcium salts of palm oil and hydrogenated fat. The average milk yield of the compiled work was 22.7 kg of milk day^{-1}. Fat supplementation average increased (P = 0.02) milk yield in 1.46 kg of milk day^{-1}. Furthermore, the milk yield increased linearly with fat intake. Saturated fat increased milk yield in average in 1.55 kg of milk day^{-1} (P = 0.01), whereas unsaturated fat increased milk production in 1.26 kg of milk day^{-1} (P = 0.03). In general milk fat content was not affected by fat supplementation (P > 0.05). However, there were differences between sources, in which feeding unsaturated sources decreased milk fat content (P = 0.01), and feeding saturated fat promoted a linear increased (P = 0.01).Regardless of sources, there was a reduction in milk protein content with fat supplementation. Saturated fat linear increased 4% fat-corrected milk with an average increase of 1.71 kg of milk day^{-1} (P = 0.01). In contrast, there was a tendency (P = 0.09) of unsaturated fat reduces 4% fat-corrected milk. Therefore, milk yield and milk composition were affected by lipid supplementation, but the results are mainly influenced by fat source.

Keywords: grazing animals, lipids, meta- analysis

3.1 Introdução

Pastagens com alta qualidade e bem adubadas apresentam alto teor de proteína, que associados à suplementação com carboidratos podem maximizar a síntese de proteína microbiana no rúmen. No entanto, altas quantidades de carboidratos rapidamente fermentáveis podem reduzir o pH ruminal, a digestão ruminal da fibra e aumentar o risco de acidose. Com isso tem sido proposta a suplementação de lipídios como forma de elevar a densidade energética das dietas, sem acréscimo na quantidade de concentrado com elevada proporção de carboidratos rapidamente fermentados, para maximizar a produção de leite de vacas mantidas em pastagens (SANTOS; SOUZA; BATISTEL, 2012).

O uso da suplementação lipídica pode trazer benefícios especialmente para vacas no início de lactação, visto que essas têm limitação na ingestão de matéria seca e, por este ser um período de grande necessidade de nutrientes, apresentam balanço energético negativo (NRC, 2001). Nessa fase da lactação há considerável mobilização de reservas corporais para suprir suas demandas energéticas para mantença 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 (ONETTI; GRUMMER, 2004).

Quando esses animais são mantidos em pastagens, principalmente em pastagens de clima tropical, o problema pode ser agravado, já que neste caso o consumo 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 (SCHROEDER et al., 2004).

Estudos revisados por Bargo et al. (2003) sugeriram haver efeito positivo no uso de lipídios saturados quando a dieta é constituída principalmente por forragem, resultando em aumento na gordura do leite. Esses mesmos autores relataram que a inclusão de lipídios para vacas mantidas em pastagens, promove um aumento médio de 6% na produção de leite. Outro benefício foi constatado por Vilela et al. (2002) que suplementaram com gordura, vacas mantidas em pastagem, nos primeiros 90 dias de lactação e verificaram aumento na persistência, no pico de produção e na lactação total. Isso evidencia um benefício residual no fornecimento de gordura no início da lactação, tanto para minimizar o balanço energético negativo, quanto para aumentar a produção da lactação.

Porém, a suplementação lipídica pode ter resultados diversos sobre a produção e composição do leite em função da fonte e quantidade de lipídios na dieta e as respostas de animais em pastejo não são bem caracterizadas. Objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação lipídica para vacas mantidas em pastagens sobre a produção e composição do leite por meio de uma análise meta-analítica.

3.2 Material e Métodos

Com intuito de avaliar os efeitos da suplementação lipídica para animais em pastejo, foram revisados 20 trabalhos com animais em pastejo. Desses trabalhos, apenas 2 foram conduzidos com plantas tropicais. Logo, os resultados aqui apresentados serão, em sua grande maioria, reflexo da suplementação lipídica para vacas mantidas em pastagem temperadas. Os trabalhos foram submetidos a uma análise meta-analítica, de acordo com (St-PIERRE, 2001).

Dos trabalhos revisados, 9 foram realizados com vacas no terço médio de lactação (considerado a partir de 120 dias em lactação) e 11 com animais em início de lactação. Em 8 trabalhos foram utilizadas fontes insaturadas de gordura (considerado quando o perfil continha > 55% de lipídios insaturados) e 12 suplementaram fontes saturadas. No total, o desempenho de 557 vacas foi avaliado, e as doses de gordura variaram de 200 a 1000g por dia. Os resultados de produção de leite, teor de gordura, teor de proteína, produção corrigida para 4% de gordura e consumo foram avaliados.

No entanto, em função da dificuldade de avaliar o consumo de animais a pasto, os dados de consumo de forragem e consumo total foram reportados em apenas 6 trabalhos. Logo, esses resultados não foram submetidos a meta-análise e serão discutidas apenas as médias.

3.3 Resultados e Discussão

As principais forragens utilizadas foram o azevém (*Lolium multiflorum*), alfafa (*Medicago sativa*) e trevo branco (*Trifolium repens*). Esses resultados caracterizam bem as plantas temperadas utilizadas em países como a Nova Zelândia, Estados Unidos e Argentina e até mesmo o Sul do Brasil durante o inverno. Dentre as fontes de gordura insaturada testadas, as principais fontes foram o óleo de soja e os sais de cálcio de óleo de soja, e as saturadas compreenderam os sais de cálcio de óleo de palma e as gorduras hidrogenadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise descritiva dos trabalhos compilados e incluídos na meta-análise, compreendendo a produção e composição de leite de vacas suplementadas com gorduras mantidas em pastagens. (continua)

Referência	Pastagem	Animais	Estádio de lactação	Tipo de gordura	Comp.	PL	PL cor.	Gordura (%)	Proteína (%)
AbuGhazaled e Holmes, 2007	Alfafa	14	Meio	Óleo de peixe e girassol	Controle	30,0	28,21	3,64	2,97
					400g/dia	31,2	28,84	3,5	2,88
Agenas et al., 2002	Festuca	44	Meio	Óleo de soja	Controle	27,2	27,4	4,73	3,62
					385 g/dia	27,8	27	3,87	2,43
Bokan et al., 2005	Azevém	36	Início	Óleo de soja	Controle	36,4	32,56	3,27	2,88
					560 g/dia	35,7	30,78	3,05	2,91
Davison et al., 1991	Quiquio, trevo branco	18	Início	SC de ácidos graxos saturados	Controle	18,3	16,8	3,47	2,89
					500g/dia	18,7	16,1	3,41	2,93
Davison et al., 1991	Quiquio, trevo branco	18	Meio	SC de ácidos graxos saturados	Controle	15,8	15,1	3,69	3,24
					500g/dia	17,9	16,4	3,7	3,23
Fischer, 1979	Quiquio, trevo branco	36	Início	Sebo	Controle	29,8	25,5	3,06	3,1
					357 g/dia	30,5	26	3,09	3,12
					689 g/dia	31,0	26,6	3,19	3,08
Gagliostro (1997)	Alfafa, azévem, trevo branco e vermelho	32	Meio	SC de ácidos graxos saturados	Controle	17,1	15,3	3,3	3,06
					400g/dia	18,6	16,5	3,26	2,95

Tabela 1 – Análise descritiva dos trabalhos compilados e incluídos na meta-análise, compreendendo a produção e composição de leite de vacas suplementadas com gorduras mantidas em pastagens.

(continuação)

Referência	Pastagem	Animais	Estádio de lactação	Tipo de gordura	Comp.	PL	PL cor.	Gordura (%)	Proteína (%)
Gagliostro (1998)	Alfafa	23	Início	Sais de cálcio de ácidos graxos saturados	Controle	22,1	19,4	3,17	3,02
					400g/dia	24,6	21,8	3,25	3,08
Gallardo et al., 2001	Alfafa	32	Meio	Óleo de peixe hidrogenado	Controle	23,9	22,3	3,53	3,47
					200g/dia	24,7	24,7	3,57	3,37
Garnsworthy (1990)	Gramínea	34	Início	Sais de cálcio de ácidos graxos saturados	Controle	21,2	20,3	3,71	3,3
					500g/dia	20,7	21,5	4,26	3,2
King et al., 1990	Azévem e trevo branco	16	Início	ácidos graxos saturados	Controle	25,3	25,3	4,02	3,03
					390g/dia	26,0	27,4	4,36	2,99
Macedo, 2012	Capim elefante	24	Meio	Sais de cálcio de óleo de soja	Controle	17,6	16,3	3,72	3,26
					250	15,4	13,8	3,34	3,25
					Controle	14,2	13,6	3,79	3,26
					250	15,0	14,0	3,41	3,12
Murphy et al., 1995	Gramínea	44	Início	Colza	Controle	21,2	19,8	3,61	3,27
					550g/dia	22,8	20,0	3,19	3,2

Tabela 1 – Análise descritiva dos trabalhos compilados e incluídos na meta-análise, compreendendo a produção e composição de leite de vacas suplementadas com gorduras mantidas em pastagens.

(conclusão)

Referência	pastagem	Animais	Estádio de lactação	Tipo de gordura	Comp.	PL	PL cor.	gordura (%)	proteína (%)
Rearte et al., 1990	Aveia	39	Meio	SC de ácidos graxos insaturados	Controle	18,8	17,9	3,67	3,36
					250g/dia	18,8	17,6	3,59	3,32
					500g/dia	19,3	17,8	3,37	3,3
Rogers e Robinson, 1988	Azévem e trevo branco	20	Meio	SC de ácidos graxos saturados	Controle	17,3	19,3	4,67	3,47
					576g/dia	18,6	20,6	4,86	3,37
Rojas-Bourrillon e Palavicini, 1996	ND	26	Início	SC de ácidos graxos saturados	Controle	20,2	17,5	3,11	3
					500g/dia	22,1	19,0	3,08	2,91
Salado, 2000	Alfafa e azévem	36	Início	Óleo hidrogenado	Controle	23,8	22,4	3,61	3,11
					700g/dia	25,1	24,6	3,86	3,11
Schroeder et al., 2002	Alfafa	37	Início	Óleo hidrogenado	Controle	25,6	23,4	3,44	3,24
					500g/dia	26,9	24,6	3,51	3,32
					1000g/dia	27,7	26,3	3,78	3,18
Vidaurreta et al., 2002	Aveia	14	Meio	SC de ácidos graxos insaturados	Controle	20,4	17,1	3,08	3,52
					900g/dia	21,7	18,6	2,72	3,45
Vilela et al. 2002	Cost cross	14	Início	Sais de cálcio de óleo de palma	Controle	18,4	19,8	4,5	3
					700g/dia	21,3	22,9	4,5	2,9

A produção de leite média dos trabalhos compilados foi de 22,7 kg de leite vaca dia^{-1}. Esses resultados estão de acordo com os relatados por Bargo et al. (2003) que indicaram produção média de vacas mantidas em pastagens temperadas varia de 20 a 25 kg de leite vaca dia^{-1}. A suplementação com lipídios permitiu um aumento (P= 0,02) médio de 1,46 kg de leite vaca dia^{-1} em comparação com o controle (Tabela 2). Esses resultados corroboram os revisados por Schroeder et al (2004) que observaram aumento médio de 0,97 kg de leite vaca dia^{-1} para animais mantidos em pastagens recebendo gordura em comparação ao controle. Além disso, recentemente, Rabiee et al. (2012) em meta-análise sobre a suplementação de gordura para vacas em confinamento indicaram aumento médio de 1,05 kg de leite vaca dia^{-1} quando a suplementação com gordura foi realizada.

Tabela 2 – Diferença na produção e composição do leite de vacas suplementadas com gordura

	Diferença na PL (kg)	**Diferença no teor de gordura[1]**	**Diferença no teor de proteína[1]**	**Diferença na PL corrigida**
Fonte saturada	1,55	0,26	-0,07	1,71
Fonte Insaturada	1,26	-0,20	-0,11	0,13
Gordura (sat. +ins.)	1,46	0,04	-0,09	1,1

[1] Diferença em unidades percentuais

Além disso, a produção de leite foi crescente com as doses de gordura, que variaram de 200 a 1000g dia^{-1} (Figura 1). Para cada acréscimo na dose de gordura em 100g a resposta em produção foi de 170g em leite, sendo que a resposta variou de 1,0 até 2,4 kg. A adição de fonte saturada permitiu um acréscimo médio de 1,55 kg de leite vaca dia^{-1} em comparação ao controle (P= 0,01). As fontes insaturadas também permitiram acréscimo médio da produção de leite de 1,26 kg de leite vaca dia^{-1} em comparação ao controle (P= 0,03). Tanto a fonte saturada (Figura 2) quanto a instaura (Figura 3) aumentaram a produção de leite de forma linear. Schroeder et al. (2004) relataram aumento da produção de leite com a adição de gordura saturada, porém não observaram diferença significativa com a adição da fonte insaturada.

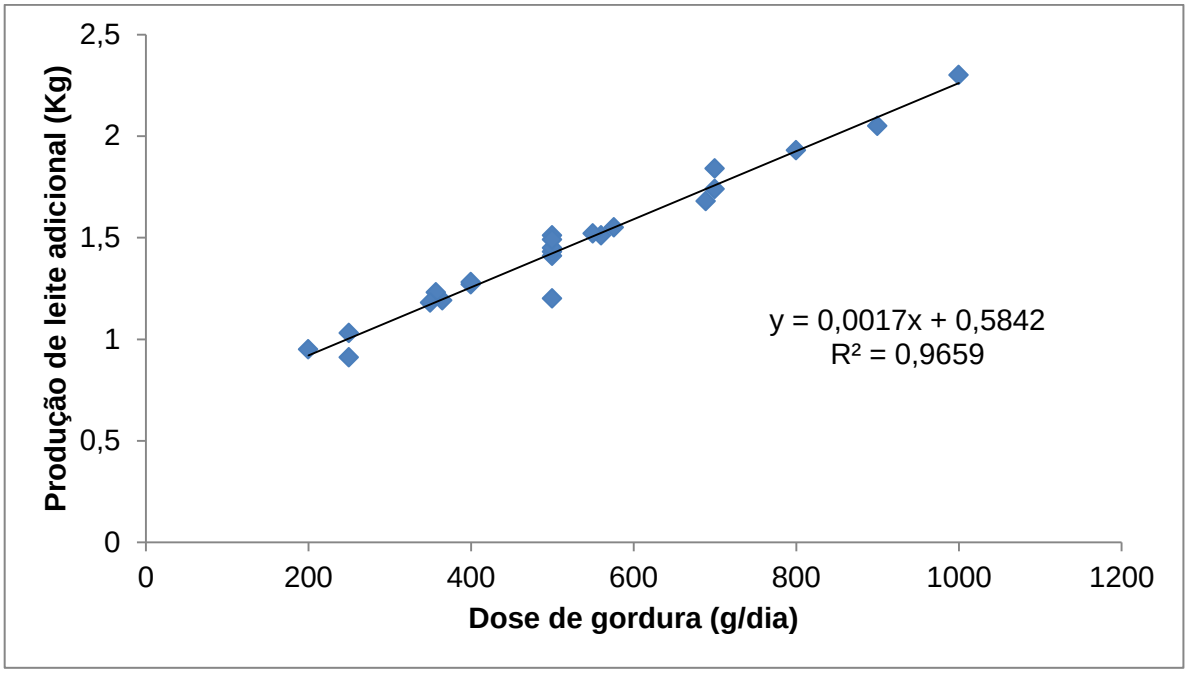

Figura 1 – Diferença na produção de leite (kg) entre animais recebendo ou não suplementação lipídica mantidos em pastagem

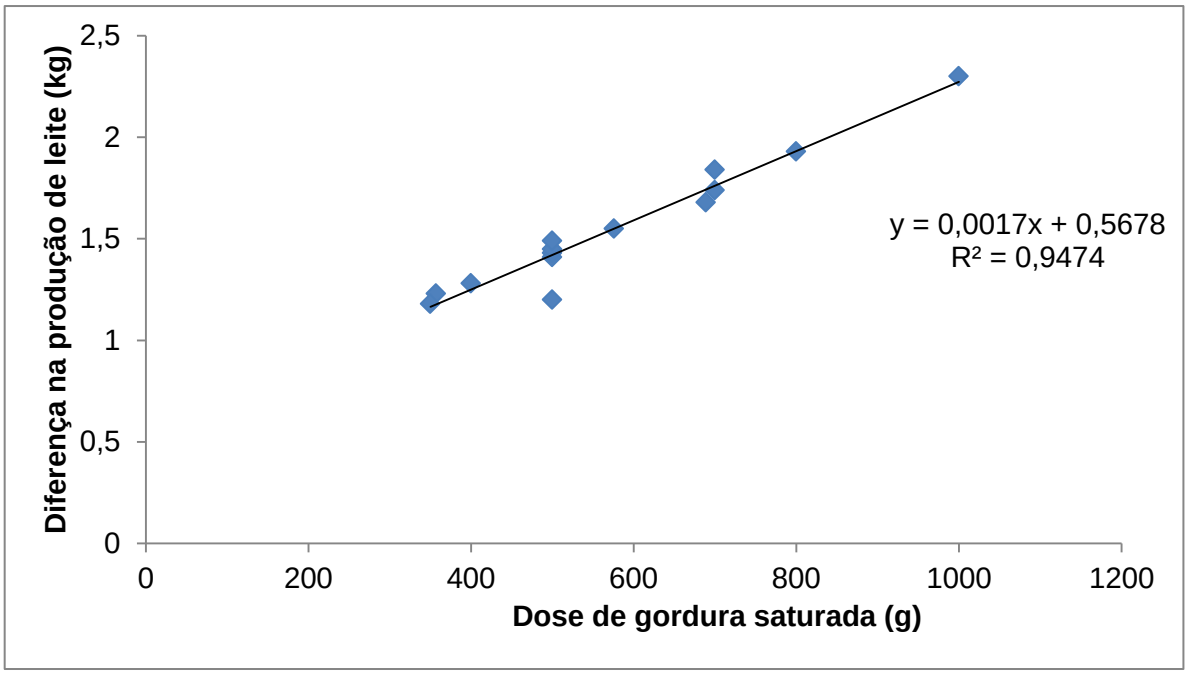

Figura 2 – Diferença na produção de leite (kg) entre animais recebendo ou não suplementação de gordura saturada mantidos em pastagem

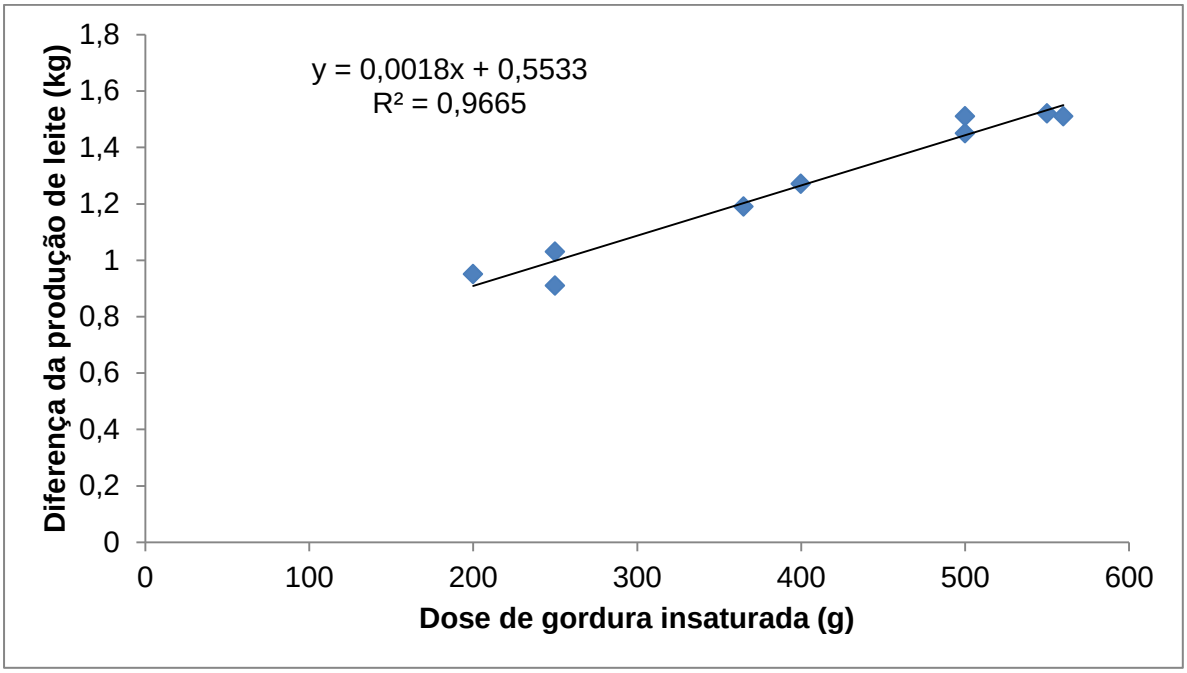

Figura 3 – Diferença na produção de leite (kg) entre animais recebendo ou não suplementação de gordura insaturada mantidos em pastagem

O aumento em produção de leite com a suplementação de gordura geralmente não ocorre em virtude do efeito do aumento da densidade energética da dieta, visto que em algumas situações o consumo é reduzido, mas é principalmente atribuída a maior eficiência de uso da energia pelas menores perdas por calor e metano e pela maior incorporação de ácidos graxos de cadeia longa diretamente no leite o que reduz o custo metabólico para sua síntese (CHILLIARD, 1993).

Em geral o teor de gordura do leite não foi afetado pela adição de gordura (P> 0,05), porém houve diferenças entre as fontes. A adição de fontes insaturadas deprimiu o teor de gordura em 0,20 unidades percentuais (P= 0,01), e o efeito foi decrescente, mas não linear (Figura 4). A depressão da gordura do leite é causada por alterações na bio-hidrogenação no rúmen de ácidos graxos insaturados e a passagem de intermediários específicos da bio-hidrogenação (por exemplo, CLA trans-10, cis-12) que posteriormente, reduzem a síntese de gordura do leite por alterar a expressão de genes que codificam enzimas envolvidas na síntese de gordura do leite na glândula mamária (BAUMAN et al., 2011). Além disso, esse processo é intensificado pela maior incorporação de ácidos graxos de cadeia longa provenientes da dieta quando a suplementação com gordura é realizada (PALMQUIST; JENKINS, 1980). A gordura do leite é produzida por meio de dois

mecanismos, via incorporação de ácidos graxos previamente formados (>16 carbonos) ou por meio da síntese de ácidos graxos de cadeia curta e média (<16 carbonos) via síntese de novo na glândula mamária (LOCK; BAUMAN, 2004). Ácidos graxos pré-formados são provenientes dos absorvidos no intestino delgado ou mobilizados a partir do tecido adiposo e entram na glândula mamária por meio da circulação de ácidos graxos não esterificados no plasma. Ácidos graxos sintetizados *de novo* na glândula mamária são produzidos a partir dos precursores como acetato e β-hidroxibutirato que são oriundos da fermentação dos alimentos. Os ácidos graxos de 16 carbonos podem vir por ambos os mecanismos (LOCK; BAUMAN, 2004). Criticamente, um equilíbrio é necessário entre a síntese de novo e ácidos graxos pré-formados, a fim de manter a fluidez do leite, e esse mecanismo poderia explicar a redução não linear do teor de gordura do leite, existindo um limite de incorporação de ácidos graxos da dieta, o mesmo ocorre com a depressão de gordura.

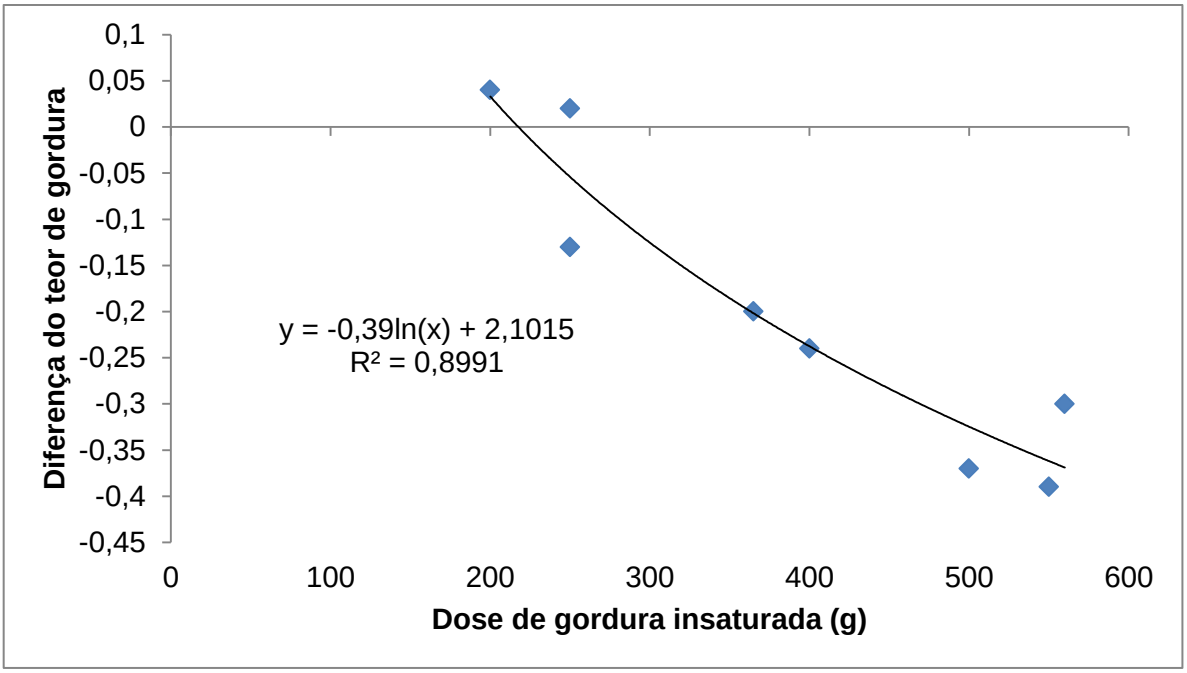

Figura 4 – Diferença no teor de gordura do leite entre animais recebendo ou não suplementação de gordura insaturada mantidos em pastagem

Em contrapartida, a adição de fontes saturadas de gordura promoveu acréscimo linear do conteúdo de gordura do leite (Figura 5). O aumento médio foi de 0,26 unidades percentuais no teor de gordura com acréscimo de fontes saturadas de

gordura em comparação ao controle (P= 0,01). Schroeder et al. (2004) encontraram resultados similares, em que houve acréscimo do teor de gordura com a suplementação de gordura de 5,1%, contra 7,1% da presente revisão.

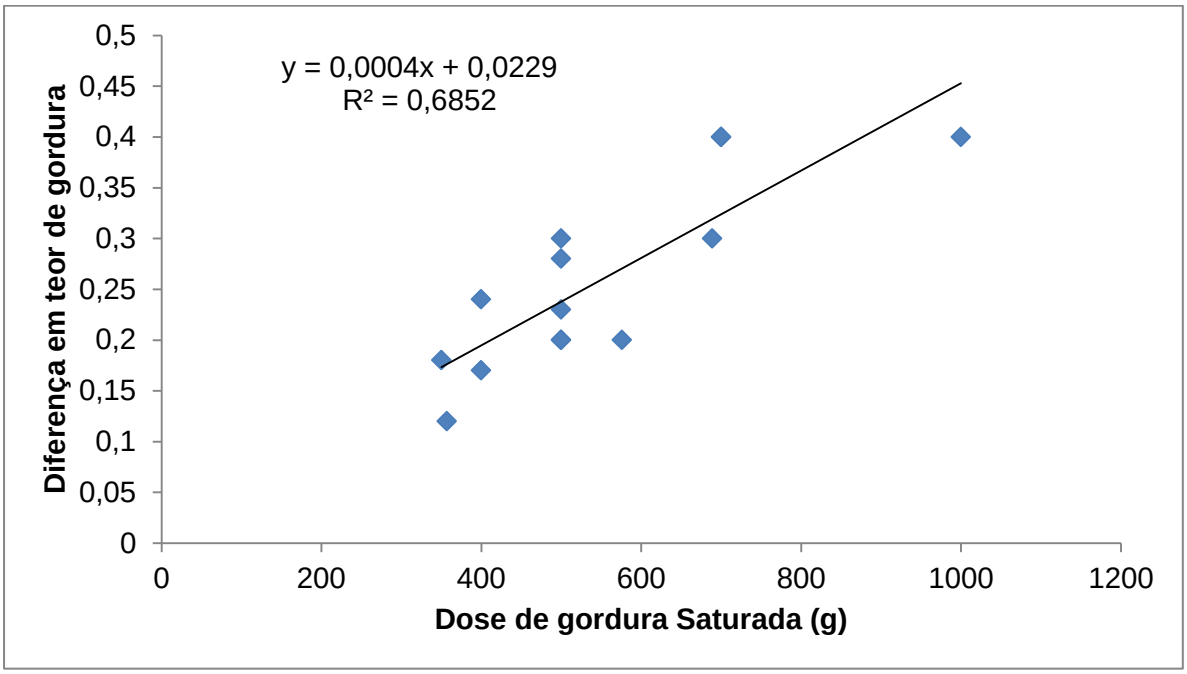

Figura 5 – Diferença no teor de gordura do leite entre animais recebendo ou não suplementação de gordura saturada mantidos em pastagem

Houve queda no teor de proteína do leite com a suplementação de gordura, independentemente da fonte utilizada (Figura 6). Essa resposta é comumente encontrada em experimentos com suplementação de gordura e não é completamente entendida (ONETTI; GRUMMER, 2004). Várias teorias foram propostas para explicar esse fenômeno incluindo a redução da glicose em função da suplementação com gordura, e aumento da resistência à insulina pelos tecidos (WU; HUBER, 1994). De Peters e Cant (1992) propuseram que o aumento da eficiência de utilização da energia poderia explicar a redução na concentração de proteína, uma vez que durante a suplementação com gordura há aumento da incorporação de ácidos graxos da dieta na gordura do leite, o que leva a uma redução na síntese *de novo* de ácidos graxos, e subsequente redução da exigência de acetato pela glândula, que poderia ser usado como fonte de energia economizando glicose para a síntese de lactose e concomitante de leite. Isso faria com que houvesse um efeito de diluição da proteína do leite.

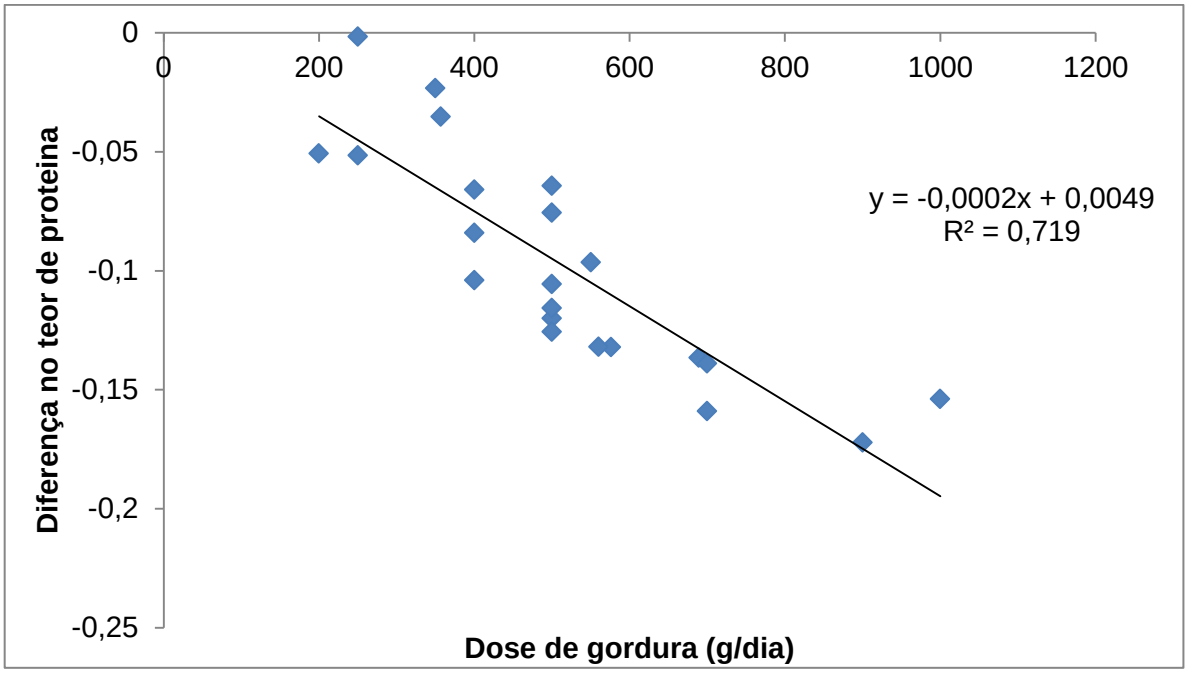

Figura 6 – Diferença no teor de proteína do leite entre animais recebendo ou não suplementação de gorduras mantidos em pastagem

A adição de fontes saturadas de gordura promoveu acréscimo linear da produção de leite corrigida para 4% de gordura (Figura 7). O aumento médio foi de 1,71 kg de leite dia^{-1} (P= 0,01), e esta associada ao fato da suplementação com essa fonte aumentar concomitantemente a produção de leite e o teor de gordura do leite. Em contrapartida, houve tendência (P=0,09) da suplementação com fontes insaturadas promoverem decréscimo da produção de leite corrigida (Figura 8). Esses resultados são corroborados por outras revisões contemplando trabalhos que suplementaram gordura para vacas a pasto e em confinamento (RABIEE et al., 2012; SCHROEDER et al., 2004).

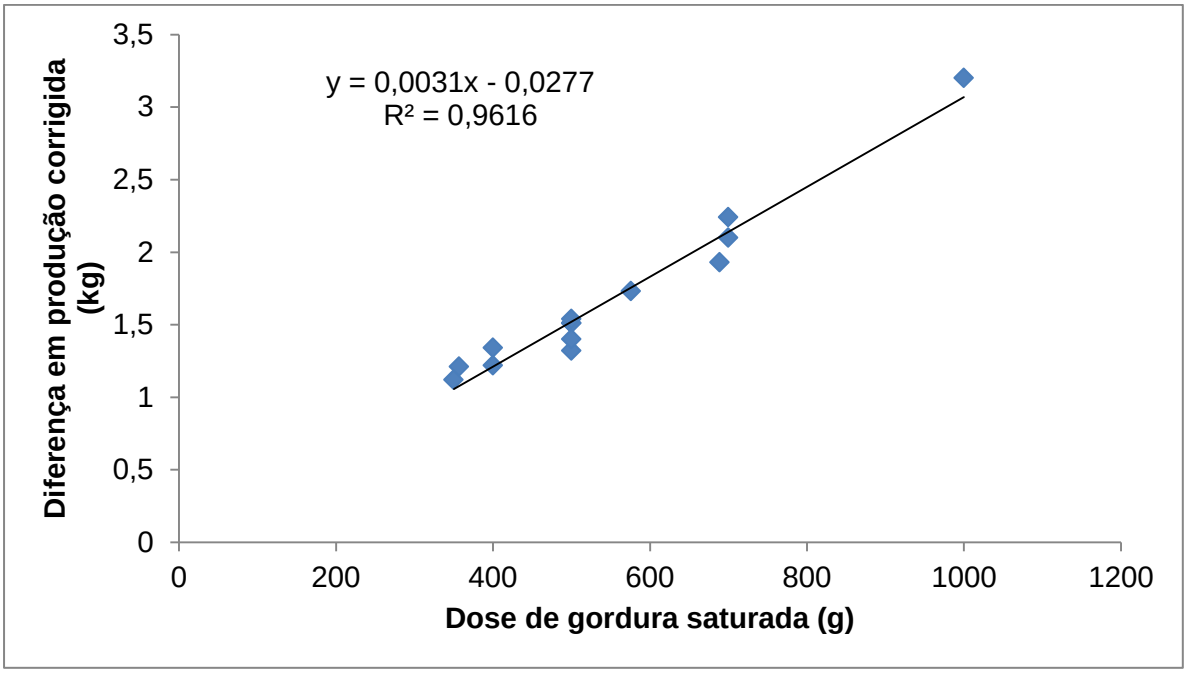

Figura 7 – Diferença na produção de leite corrigida para 4% de gordura entre animais recebendo ou não suplementação de gordura saturada mantidos em pastagem

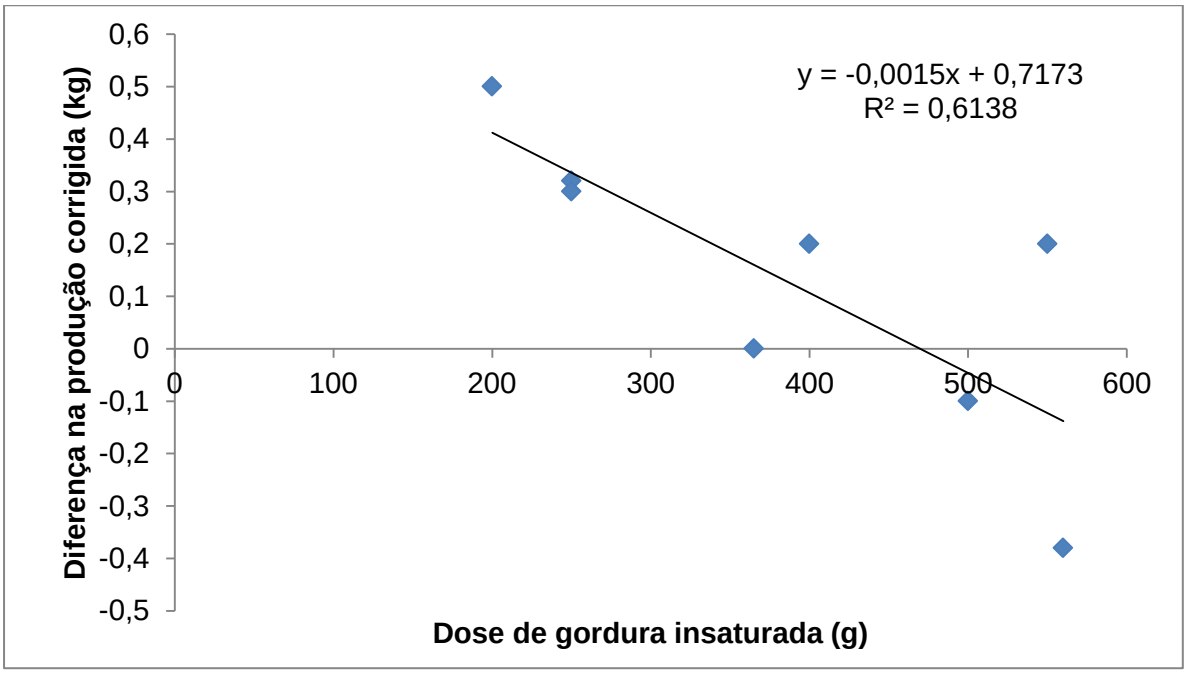

Figura 8 – Diferença na produção de leite corrigida para 4% de gordura entre animais recebendo ou não suplementação de gordura insaturada mantidos em pastagem

Esses resultados indicam que a suplementação com gordura saturada melhora a produção e o teor de gordura, enquanto a fonte insaturada deprime a gordura do leite e, portanto não havendo depressão do consumo, a fonte insaturada, dependendo da fase de lactação tende a redirecionar a energia extra para outras funções, como o ganho de peso (HARVATINE; ALLEN, 2006).

Houve tendência de redução no consumo de matéria seca nos trabalhos compilados por Rabiee et al. (2012). No entanto, Schroeder et al. (2004) não observaram efeito da suplementação com gordura sobre o consumo de vacas mantidas em pastejo. Recentemente, Lock et al. (2013) e Piantoni et al. (2013) não relataram depressão do consumo de vacas mantidas em confinamento recendo suplementação com isômeros purificados de ácido palmítico. Assim, os resultados de consumo mostram-se bastante contraditórios e poucos trabalhos suplementando gordura para vacas em pastejo mediram essa variável, visto a complexidade de mensurar consumo de animais em pastejo. No entanto, pode-se inferir que se a suplementação de gordura afetar a degradação da fibra, ou em dose elevada para estimular a liberação de metabolitos regulares de consumo no abomaso e intestino, o consumo provavelmente é reduzido.

3.4 Conclusão

Em geral a suplementação lipídica para vacas mantidas em pastegens melhora a produção de leite, deprime o teor de proteína e não afeta o teor de gordura. A suplementação com fontes saturadas de gordura aumentou a produção de leite, o teor de gordura, e a produção de leite corrigida para 4% de gordura e reduziu o teor de proteína do leite. A suplementação com fontes insaturadas aumentou a produção de leite, reduziu os teores de gordura e proteína do leite e não aumentou a produção de leite corrigida para 4% de gordura. Os resultados quanto a produção e composição do leite dependem da fonte de gordura fornecida.

Referências

ABUGHAZALEH, A.A.; HOLMES, L.D. Diet supplementation with fish oil and sunflower oil to increase conjugated linoleic acid levels in milk fat of partially grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 2897-2904, 2007.

AGENAS, S.; HOLTENIUS, K.; GRIINARI, M.; BURSTEDT, E. Effects of turn out to pasture and dietary fat supplementation on milk fat composition and conjugated linoleic acid in dairy cows. **Acta Agriculture Animal Science**, Aarhus, v. 52, p. 25–33, 2002.

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.

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.; HARVATINE, K.J.; LOCK, A.L. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, Gainesville, v. 31, p. 299-319, 2011.

BAUMAN, D.E.; PERFIELD, J.W.; DE VETH, M.J.; LOCK, A.L. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 65., Ithaca, 2003. **Proceedings…** Ithaca: Cornell, 2003. p. 175-189.

BAUMAN, D.E.; HINRICHSEN, T.; TYBURCZY, C.; HARVATINE, K.J.; LOCK, A.L. Update on milk fat: identification of rumen biohidrogenation intermediates that inhibit syntesis. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE, 68., Ithaca, 2006. **Proceedings…** Ithaca: Cornell, 2006. p. 59-65.

BAUMGARD, L.H.; MATITASHVII, E.; CORL, B.A.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 2155-2163, 2002.

BEAM, T.M.; JENKINS, T.C.; MOATE, P.J.R.; KOHN, A.; PALMQUIST. D.L. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 2564-2573, 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.

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.

DAVISON, T.M.; VERVOORT, F.P.; DUNCALFE, F. Responses to a long-chain fatty acid supplement fed to dairy cows at two stages of lactation. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Sidney, v. 31, p. 467–470, 1991.

De PETERS, E.J.; CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 75, p. 2043-2070, 1992.

FISHER, L.J. Supplementation with protected lipid as a means of alleviated 'spring pasture' induced milk fat depression. **Canadian Journal of Animal Science,** Vancouver, v. 59, p. 707–712, 1979.

GAGLIOSTRO, G.A. Suplementación con sales de calcio de ácidos grasos en vacas lecheras en lactancia media en condiciones de pastoreo. **Revista Argentina de Producción Animal**, Buenos Aires, v. 17, p. 83–96, 1997.

_____. Suplementación con lípidos protegidos em vacas lecheras en lactancia temprana: efectos sobre la producción, la composición de la leche, la concentración de metabolitos plasmáticos y la respuesta a estímulos hormonales. **Revista Argentina de Producción Animal**, Buenos Aires, v. 18, p. 85– 00, 1998.

GAGLIOSTRO, G.A.; CHILLIARD, Y. Utilización de lípidos protegidos en la nutrición de vacas lecheras. I. Efectos sobre la producción y la composición de la leche, y sobre la ingestión de materia seca y energía. **Revista Argentina de Producción Animal**, Buenos Aires, v. 12, p. 1–15, 1992.

GALLARDO, M.R.; VALTORTA, S.E.; LEVA, P.E. Hydrogenated fish fat for grazing dairy cows in summer. **International Journal of Biometeorology**, Vancouver, v. 45, p. 111–114, 2001.

GARNSWORTHY, P.C. Feeding calcium salts of fatty acids in high-starch or high-fiber compound supplements to lactating cows at grass. **Animal Production Science**, Sidney, v. 51, p. 441–447, 1990.

GEHMAN, A.M.; BERTRAND, J.A.; JENKINS, T.C. PALMQUIST, D. The effect of carbohydrate source on nitrogen capture in dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 2659-2667, 2006.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Org.). **The rumen microbial ecosystem**. 2nd ed. New York: Blackie Academic & Professional, 1988. p. 380–425.

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. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED

MANUFACTURES, 69., 2007, Ithaca. **Proceedings…** Ithaca: Cornell 2007. p. 135-142.

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.

JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J.; MOSLEY, E.E. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 397-412, 2008.

KING, K.R.; STOCKDALE, C.R.; TRIGG, T.E. Influence of high energy supplements containing fatty acids on the productivity of pasture-fed dairy cows. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Sidney, v. 30, p. 11–16, 1990.

LOCK, A.L.; BAUMAN, D.E. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. **Lipids,** Mississippi, v. 39, p. 1197–1206, 2004.

LOCK, A.L.; PRESEAULT, C.L.; RICO, J.E.; DELAND, K.E.; ALLEN, M.S.; Feeding a C16:0-enriched fat supplement increased the yield of milk fat and improved conversion of feed to milk. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 96, p. 6650-6659, 2013.

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.

MACEDO, F.L. **Doses de concentrado com ou sem gordura inerte na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais.** 2012. 121 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

MURPHY, J.J.; CONNOLLY, J.F.; MCNEILL, G.P. Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soyabeans and rapeseeds to dairy cows at pasture. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 44, p. 13–25, 1995.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.

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

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

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.

PALMQUIST, D.L.; LOCK, A.L.; SHINGFIELD, K.J.; BAUMAN, D.E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. **Advanced Food Nutrition Research**, Amsterdam, v. 50, p. 179–217, 2005.

PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. Ideal concentrate feeds for grazing dairy cows responses to supplementation in interaction with grazing management and grass quality. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 2001. p. 203 - 220.

PIANTONI, P.; LOCK, A.L.; RICO, D.; ALLEN, M.S. Palmitic acid increased yields of milk and milk fat and nutrient digestibility across production level of lactating cows. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 96, p. 7143-7154, 2013.

PIPEROVA, L.S.; TETER, B.B.; BRUCKENTAL, I.; MILLS, E.E.; SAMPUGNA, J.; YURAWECZ, M.P.; FRITSCHE, J.; KU, K.; ERDMAN, R.A. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. **Journal of Nutrition**, London, v. 130, p. 2568–2574, 2000.

RABIEE, A.R.; BREINHILD, K.; SCOTT, W.; GOLDER, H.M.; BLOCK, E.; LEAN, I.J. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: a meta-analysis and meta-regression. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 95, p. 3225-3247, 2012.

REARTE, D.H.; GARCIARENA, D.A.; SANTINI, F.J. Suplementación con sales insolubles de Ca a vacas lecheras en pastoreo: Efecto sobre producción y composición de la leche. **Informe Anual. Area de Producción Animal**, Buenos Aires, v. 32, p. 45-54, 1990.

ROGERS, G.; ROBINSON, I. Fatty acid calcium soaps as supplement for grazing dairy cows. **Australian Animal of Production**, Sidney, v. 17, p. 459-465, 1988.

ROJAS-BOURRILLON, A.; PALAVICINI, G., Suplementacion con grasa protegida a vacas de alta producción en pastoreo. **Agronomıa Costarricense,** San Jose, v. 20, p. 81–85, 1996.

SALADO, E.E.; GAGLIOSTRO, G.A.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. Partial replacement of corn grain by hidrogeneted 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.; SOUZA, J.; BATISTEL, F. Uso intensivo de pastagem para produção de leite. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO DE RUMINANTES NO CERRADO, 1., 2011, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: FAMEV, UFU, 2012. p. 161-208.

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.

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.; GAGLIOSTRO, G.A.; BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; MULLER, L.D. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. **Livestock Production Science,** Amsterdam, v. 86, p. 1-18, 2004.

St-PIERRE, N.R. Invited review: integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology1. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 84, p. 741-755, 2001.

VIDAURRETA, L.I.; GAGLIOSTRO, G.A.; SCHROEDER, G.F.; RODRIGUEZ, A.; GATTI, P. Partial replacement of corn grain by calcium salts of unsaturated fatty acids in grazing dairy cows: 2 - Milk fatty acid composition **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 311–312, 2002.

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.

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

4 AVALIAÇÃO DE MARCADORES EXTERNOS PARA ESTIMATIVA DA PRODUÇÃO FECAL, CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DE VACAS EM PASTEJO

Resumo

O consumo de forragem é o principal fator que afeta o desempenho de animais em pastejo, no entanto as metodologias para medidas diretas de consumo não são praticas e simples. O objetivou-se comparar o uso do dióxido de titânio (TiO_2) como marcador externo em substituição ao óxido crômico (Cr_2O_3). Dois experimentos foram conduzidos para comparar as estimativas de excreção fecal, consumo de forragem e digestibilidade em vacas em pastejo. No experimento I, 2 vacas secas canuladas no rúmen em dois períodos foram alocadas em baias individuais e receberam um suplemento concentrado e o extrato pastejado de capim elefante proveniente da mesma área e manejo do experimento II. A excreção fecal, os consumos de forragem de MS total e digestibilidade foram mensurados e estimados com Cr_2O_3 e TiO_2. No experimento II, foram utilizadas 27 vacas em início de lactação em pastejo de capim-elefante submetidas aos seguintes tratamentos de acordo com o suplemento concentrado: a) controle (sem gordura); b) 400g de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); e c) 400g de sais de cálcio de óleo de palma (SCOP). O consumo foi estimado com os dois marcadores comparado ao predito pelo NRC (2001). No experimento I, a excreção fecal tendeu (P= 0,06) ser maior para os valores estimados pelo Cr_2O_3. O Cr_2O_3 superestimou a excreção fecal (P= 0,02) comparado com a coleta total de fezes, enquanto que houve tendência (P= 0,07) do TiO_2 também superestimar. O consumo de forragem e o consumo de MS total foram superestimados pelo Cr_2O_3 (P= 0,03), enquanto não foram observadas diferenças entre os valores observados de consumo e estimados pelo TiO_2 (P= 0,80). A digestibilidade aparente da MS foi subestimada tanto pelo Cr_2O_3 (P= 0,01) quanto pelo TiO_2 (P= 0,05). De maneira análoga, a digestibilidade aparente da matéria orgânica também foi subestimada por ambos os marcadores. No experimento II, não houve interação entre os marcadores e tratamentos aplicados (P= 0,64). O marcador Cr_2O_3 superestimou o consumo de forragem e o consumo de MS total quando comparado com os valores preditos pelo NRC (2001) (P= 0,01). Em contrapartida, não houve diferença entre o consumo estimado pelo TiO_2 e os valores preditos pelo NRC (2001). Em ambos os experimentos houve maior viés médio, quadrado médio do erro predito e raiz quadrada média do erro predito para todas as variáveis estimadas com o Cr_2O_3 comparadas as estimadas com o TiO_2. Portanto, as estimativas utilizando TiO_2 foram mais precisas e acuradas indicando que pode substituir o Cr_2O_3 como marcador externo para vacas em pastejo.

Palavras-chave: Animais em pastejo; Cromo; Titânio

Abstract

The nutritional status of a grazing ruminant is dictated by forage intake, but direct measurements are neither easy nor practical. The objective of this study was to compare the use of an external marker titanium dioxide (TiO_2) as an alternative to chromic oxide (Cr_2O_3). Two experiments were conducted to compare the estimates

of fecal excretion, forage intake and digestibility in grazing dairy cows. In experiment I, dairy cows were allocated in individual pens and fed concentrate supplement and elephant grass (*Pennisetum purpureum*) cut daily from paddocks used in experiment II. Fecal excretion, forage and total DM intakes and digestibility were measured and estimated with TiO_2 and Cr_2O_3. In experiment II, twenty-seven crossbred lactating dairy cows grazing elephant grass were subjected to the following treatments according to concentrate supplements being fed: (a) control (no fat); (b) 400 g of calcium salts of soybean oil (CSSO) cow^{-1} day^{-1}; and (c) 400 g of calcium salts of palm oil (CSPO) cow^{-1} day^{-1}. In experiment I fecal excretion tended (P= 0.06) to be greater in predicted values with Cr_2O_3 than with TiO_2. Chromic oxide overestimated fecal excretion (P= 0.02) compared with observed values, and TiO_2 also tended overestimated fecal excretion (P= 0.07). Forage and total DM intakes were overestimated by Cr_2O_3 (P= 0.03), while no differences were detected between total fecal collection and TiO_2 predictions (P= 0.8). The apparent DM digestibility was underestimated by Cr_2O_3 (P= 0.01) and with TiO_2 (P= 0.05). Following the same pattern, organic matter digestibility was underestimated by both markers. In experiment II there were no interactions between markers and treatments (P= 0.64). Chromic oxide overestimated forage intake and DM intake compared with predicted values from NRC (2001) (P= 0.01). In contrast, no differences were observed in intake values between TiO_2 and predicted with NRC (2001). In both experiments there were greater mean bias, mean squared prediction error and root of the mean squared prediction errors for all parameters estimated with Cr_2O_3 compared with TiO_2. In conclusion, estimates using TiO_2 were more precise and accurate indicating that it can replace Cr_2O_3 as an external marker for grazing dairy cows.

Keywords: Chromium; Grazing animals; Titanium

4.1 Introdução

No Brasil, a produção animal é baseada na utilização de pastagens, com ou sem o uso de suplementos concentrados, em que as pastagens tropicais são utilizadas na maioria das operações comerciais. O consumo de forragem é o principal fator determinante do desempenho de animais em pastejo, e é influenciado por vários fatores associados ao animal, ao pasto, ao ambiente e às suas interações (CARVALHO et al., 2007).

O consumo pode ser avaliado como o produto da divisão da produção total de fezes pela indigestibilidade da dieta. No entanto, a produção total de fezes de animais a pasto não pode ser determinado diretamente de maneira pratica e fácil (CARVALHO et al., 2007). Para mensuração direta da produção fecal, o uso de sacolas e arreios é necessário, porém essa forma de coleta apresenta algumas desvantagens, visto que o uso de arreios e sacolas pode ocasionar perdas de fezes,

aumentar o estresse do animal, influenciar no comportamento ingestivo e reduzir o consumo de matéria seca (MAYES; DOVE, 2000).

Assim, foram desenvolvidos métodos indiretos com o uso de marcadores internos ou externos para determinar a produção fecal e possibilitar o cálculo do consumo e da digestibilidade (BERCHIELLI et al., 2000). A determinação da excreção fecal pelo método dos marcadores baseia-se no emprego de uma substância de referência (marcador), a qual, sendo ingerida na dieta, deve ser recuperada totalmente nas fezes (DETTMANN et al., 2001). Entre os marcadores externos existentes, o óxido crômico (Cr_2O_3) é um dos mais empregados na determinação da excreção fecal, apresentando as vantagens de ser de baixo custo, prontamente incorporado à dieta e analisado com relativa facilidade (MERCHEN, 1988).

Por muitos anos o Cr_2O_3 foi um dos marcadores mais utilizados para predizer a produção fecal em ruminantes mantidos em pasto (GLINDEMANN et al., 2009). Entretanto, sua recuperação fecal varia amplamente entre animais em vários experimentos (TITGEMEYER et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2007). Além disso, há preocupação em função dos efeitos carcinogênicos que o uso desse marcador possa acarretar (MYERS et al., 2006).

Dessa forma, o estudo de marcadores alternativos ao Cr_2O_3 começou a ser realizado e a utilização do dióxido de titânio (TiO_2) tem mostrado resultados satisfatórios (MYERS et al., 2004). Foram realizadas comparações diretas entre Cr_2O_3 e TiO_2 em estudos com suínos (JAGGER et al., 1992), bovinos de corte (TITGEMEYER et al., 2001) e ovinos (MYERS et al., 2006), e indicaram que o TiO_2 é uma alternativa interessante ao uso de Cr_2O_3. No entanto, não é de nosso conhecimento nenhum estudo comparando Cr_2O_3 e TiO_2 para vacas em pastejo. Com base no exposto, objetivou-se comparar o uso de marcadores externos na estimativa da produção fecal, consumo e digestibilidade de vacas em lactação mantidas em pastagem tropical.

4.2 Material e Métodos

Dois experimentos foram realizados no setor de bovinocultura de leite do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da

Universidade de São Paulo, na cidade de Piracicaba-SP a fim de comparar Cr_2O_3 e TiO_2 como marcadores de produção fecal, e cálculo do consumo e digestibilidade.

4.2.1 Experimento I

No experimento I, foram utilizadas duas vacas secas canuladas no rúmen, pesando (média ± DP) 590 ± 40 kg. As vacas permaneceram em baias individuais durante todo o experimento, com acesso livre a água. Todas as vacas receberam a mesma dieta composta por 6 kg MS de concentrado dia^{-1} (mesma composição do concentrado controle do experimento II) e forragem.

O concentrado e a forragem foram fornecidos duas vezes ao dia (07h00 e 19h00). A forragem foi cortada diariamente de uma área de capim elefante (*Pennisetum Purpureum* cv. Cameron) manejada em sistema rotativo, baseado na altura do dossel, com meta de 103 cm de entrada (corte), previamente determinado como o ponto em que o dossel intercepta 95% da radiação incidente (VOLTOLINI et al., 2010). A proporção da forragem cortada correspondeu aos 40 cm da porção superior do dossel, com o objetivo de simular a mesma condição aos quais os animais do experimento II foram expostos. Além disso, conforme relatado por FONSECA et al. (2012), para otimizar o consumo de forragem, os animais devem ingerir até 40% da altura inicial de entrada.

O delineamento experimental utilizado foi um *cross-over* com dois períodos de 14 dias cada, compostos por 10 dias de adaptação e quatro dias de coleta. Entre os dois períodos foram aplicados um período de descanso de sete dias. As vacas receberam como tratamento os dois marcadores, sendo Cr_2O_3 e TiO_2 fornecidos duas vezes ao dia na forma de “péletes” contendo 10 g cada, e colocados diretamente no rúmen dos animais. Foi pesada a quantidade fornecida de concentrado, forragem e sobras, com a finalidade de calcular o consumo observado. Além disso, amostras do concentrado e forragem foram coletadas semanalmente, compostas por período, secas em estufa de ventilação forçada à 55º C durante 72 horas, moídas em peneiras de 1 mm em moinhos do tipo Willey (Wiley Mill; Arthur H. Thomas) e estocadas para análises químicas.

Durante o período de coleta, a produção total de fezes foi mensurada coletando-se o total de fezes produzidas por cada animal, três vezes ao dia. Esse

montante foi pesado e 10% do total foram congelados. Após esse período, as amostras foram descongeladas, misturadas e compostas por período e dia, e então, secas em estufa de ventilação forçada à 55º C durante 72 horas, moídas em peneiras de 1 mm em moinhos do tipo Willey (Wiley Mill; Arthur H. Thomas) e estocadas para análises químicas.

4.2.2 Experimento II

Foram utilizadas 27 vacas mestiças Holandês X Jersey provenientes do rebanho da ESALQ – USP, sendo 18 multíparas e 9 primíparas, com média de 15 ± 3,1 dias em lactação (DEL), 20,5 ± 2,1 kg de leite dia^{-1} e 478 ± 44 kg de peso corporal no início do experimento. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, em que os animais foram agrupados pelo número de lactações (primíparas ou multíparas), e dentro desses grupos por produção de leite e DEL, perfazendo 9 blocos. Todos os animais receberam previamente ao início do experimento a mesma dieta e manejo. As vacas foram submetidas aos seguintes tratamentos: a) controle (sem adição de gordura); b) 400 g de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); e c) 400 g de sais de cálcio de óleo de palma (SCOP). Os tratamentos foram adicionados ao concentrado, fornecido duas vezes ao dia as 04h00 e as 15h00, antes da ordenha, totalizando 8 kg de MS de concentrado dia^{-1} durante 90 dias.

Os animais permaneceram em pastagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameron) em área de 5 ha. A pastagem foi adubada com 60 kg de nitrogênio a cada ciclo de pastejo. O sistema de pastejo utilizado foi o rotativo baseado na altura do dossel de 103 cm como critério de entrada, como previamente sugerido por Voltolini et al. (2010). Todos os animais pastejaram em lote único piquetes de 2000 m^2, e permaneceram em média um dia em cada, sempre tendo acesso ao novo piquete na parte da tarde, e com acesso ilimitado a água e área de sombra. Os animais experimentais rebaixaram o dossel na média até 62.8 cm, e posteriormente outro grupo de menor exigência nutricional era utilizado para baixar o dossel até a altura preconizada de saída (45 ± 5 cm).

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia as 04h30 e as 16h00 e a produção de leite mensurada a cada dois dias. Foram coletadas amostras de leite

para determinação da composição química a cada seis dias em tubo coletor plástico de 100 mL contendo 2-bromo 2-nitropropano-1-3-diol, homogeneizadas e armazenadas em geladeira a 8ºC 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. Também foi realizada a pesagem dos animais a cada 30 dias, bem como a análise do escore de condição corporal (ECC) realizado por dois avaliadores utilizando a metodologia descrita por Wildman et al. (1982).

Para estimar o consumo de forragem todas as vacas foram dosadas oralmente com Cr_2O_3 e TiO_2 duas vezes ao dia na forma de “péletes” contendo 10 g cada, durante 15 dias. As vacas receberam os marcadores três vezes durante o experimento (3 períodos), com início nos dias 15, 45 e 75 do período experimental, seguidos de 10 dias de adaptação e 5 de coleta. A coleta de fezes foi realizada duas vezes ao dia, antes de cada ordenha. Ao final as amostras foram compostas por vaca e período, secas em estufa de ventilação forçada à 55º C durante 72h, moídas a 1 mm e armazenadas em frascos plásticos à temperatura ambiente para posterior análise.

Para comparar o consumo estimado por ambos marcadores, o consumo base foi tido como aquele predito pelo NRC (2001). Foram utilizados os dados de cada animal, em cada período, sendo utilizada a produção de leite média da semana de coleta de fezes, a composição do leite, o peso corporal e o ECC.

4.2.3 Determinações laboratoriais

As amostras de fezes dos experimentos I e II foram analisadas para as concentrações de cromo e titânio no laboratório de tecidos vegetais do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP. Na análise de cromo foi empregada a digestão nitro-perclórica (VEGA; POPPI, 1997) e posterior leitura em espectrofotômetro de absorbância atômica. Para a determinação da concentração de titânio foi empregada a metodologia descrita por Myers et al. (2004), em que as amostras de fezes foram digeridas em ácido sulfúrico e, realizada a leitura em espectrofotômetro UV a 410 nm, sendo utilizado uma curva de calibração com concentração conhecida de titânio.

Amostras de concentrado, forragem e fezes foram secas em estufa de ventilação forçada à 105º C durante 24h para determinação da MS. O conteúdo de cinzas foi determinado após combustão à 550º C durante 4h. O teor de extrato etéreo foi determinado de acordo com a metodologia proposta pela Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990). O conteúdo de N foi determinado pelo método de combustão de Dumas (Leco FP-2000 N analyzer) de acordo com Sweeney (1989). Os teores de FDN, FDA e lignina foram determinados usando o método de Van Soest et al. (1991), com sulfito de sódio para todas as amostras e α-amilase para as amostras de concentrado.

Para a determinação da indigestibilidade, necessária para o cálculo das estimativas de consumo por ambos marcadores foi utilizado a concentração de FDNi. Amostras de fezes de cada animal, concentrado e forragem moídos a 1 mm, foram acondicionadas em bolsas filtro F-57 (Ankom®) e incubados em triplicatas no rúmen de uma vaca canulada por 240 horas (CASALI et al., 2008). 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® (100º C por 1 hora). Posteriormente, as bolsas filtro foram lavadas seis vezes com água quente e uma vez com acetona, secas em estufa por 12 horas e o resíduo foi considerado o FDNi. O conteúdo de FDNi do concentrado e da forragem foi dividido pelo FDNi das fezes de cada animal para o calculo da indigestibilidade.

A excreção fecal (EF) de ambos marcadores foi calculada conforme a formula abaixo:

$$\text{EF (kg dia}^{-1}) = \frac{Quantidade\ do\ marcador\ administrado}{Concentração\ do\ marcador\ nas\ fezes}$$

A contribuição fecal proveniente do concentrado (EF concentrado) foi determinada como sendo a quantidade de concentrado oferecida no período da avaliação, multiplicada por sua indigestibilidade. Do valor obtido de EF 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:

$$\text{Consumo de pasto (kg)} = \frac{EF - EF\ concentrado}{Indigestibilidade\ do\ capim}$$

4.2.4 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com o pacote estatístico do SAS® utilizando o procedimento MIXED. No experimento I, para comparação entre os valores observados e preditos pelos marcadores, o modelo incluiu os marcadores, dia e interação marcador e dia como efeitos fixos. Ainda, o modelo considerou o período e o animal como efeitos aleatórios. Além disso, com objetivo de avaliar as diferenças entre os marcadores o viés foi calculado (desvio entre o valor observado e predito) para cada marcador, e então submetido a um modelo misto incluindo os marcadores, dia e interação marcador e dia como efeitos fixos e o período e o animal como efeitos aleatórios. O dia foi considerado a medida repetida e a matriz de covariância foi escolhida baseada nos parâmetros de Akaike (AIC) e Bayesian (BIC).

No experimento II para a comparação entre os valores preditos pelo NRC (2001) e estimados pelos marcadores, o modelo incluiu os efeitos fixos de tratamentos (controle, SCOS e SCOP), marcador (Cr_2O_3 e TiO_2) e suas interações e, o bloco foi tido como efeito aleatório. O período foi considerado a medida repetida e a matriz de covariância foi escolhida baseada nos parâmetros de AIC e BIC.

A acurácia das predições com os marcadores foi avaliada calculando-se o viés médio (média dos desvios entre os valores observados e preditos) e considerando o valor de correção para viés (CB) proposto por Lin (1992). O erro da regressão foi estimado calculando o quadrado médio da diferença entre os valores preditos e observados (QMEP). O tamanho do erro foi calculado como a raiz quadrada média do erro predito (RQMEP). O QMEP foi decomposto em três componentes: viés médio, erro da regressão e erro aleatório (BIBBY; TOUTENBURG, 1977). Todos os parâmetros descritos foram calculados usando o *Model Evaluation System* (TEDESCHI et al., 2006).

4.3 Resultados e Discussão

A composição química da forragem foi semelhante à de experimentos prévios conduzidos na mesma área, com as mesmas metas de manejo do pastejo (DANES, 2010; CHAGAS, 2011; MACEDO, 2012). Esses resultados indicam que pastagens

tropicais bem manejadas possuem teores elevados de proteína no extrato pastejado, o que pode garantir bom desempenho animal (Tabela 1).

Dentre os fatores responsáveis pelo desempenho de animais em pastejo, o consumo de forragem é uma informação crucial para avaliar o status nutricional dos animais mantidos em pasto em diferentes sistemas de manejo (GLINDEMANN et al., 2009). O consumo de forragem é influenciado por diversos fatores associados ao animal, ao manejo do pastejo, ao ambiente e suas interações (CARVALHO et al., 2007). Porém, medidas diretas do consumo de forragem não são simples e práticas e podem acarretar em erros (MAYES; DOVE, 2000). Assim, métodos indiretos com o uso de marcadores, são comumente empregados na determinação de consumo de animais a pasto (BERCHIELLI et al., 2001).

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes e composição química dos concentrados e forragem durante os experimentos I e II

	Forragem	Concentrado		
		Controle	SCOS	SCOP
Ingredientes		% MS		
Milho		82,90	77,82	77,82
Farelo de soja		12,00	12,00	12,00
Bicarbonato de sódio		1,00	1,00	1,00
Gordura inerte		0,00	4,88	4,88
Ureia		0,10	0,30	0,30
Mineral		4,00	4,00	4,00
Total		100,00	100,00	100,00
Composição química				
MS (%)	19,6	88,8	89,4	89,3
PB (%)	17,3	14,5	14,4	14,4
EE (%)	2,7	3,7	7,2	7,2
FDN (%)	56,2	9,3	8,8	8,8
FDA (%)	39,5	3,4	3,2	3,2
Lignina (%)	4,2	0,4	0,4	0,4
Cinzas (%)	11,1	6,8	7,2	7,2
ELL (Mcal/kg)	1,41	1,92	2,05	2,05

No experimento I, a recuperação fecal do TiO_2 foi em média de 89,6 ± 4,4%, variando de 85,2 até 99,7%, enquanto a recuperação do Cr_2O_3 foi em média de 87,9 ± 5,8%, e variou de 81,7 até 93,7%. Além disso, não houve interação entre os marcadores e os dias de coleta para nenhuma das variáveis estudadas. A recuperação fecal do TiO_2 foi similar ao relatados por Titgemeyer et al. (2001) que contataram recuperação média de 90%. Embora variações possam ocorrer na excreção fecal dos marcadores, os 10 dias de adaptação adotados nesse estudo foi suficiente para que houvesse excreção constante de TiO_2. Com relação a recuperação do Cr_2O_3, esta foi um pouco superior ao valor de 82,5% relatado por Oliveira et al. (2007) e inferior ao de 113% descrito por Titgemeyer et al. (2001). Essa grande variação na recuperação fecal do Cr_2O_3 é critica constante ao uso desse marcador.

Houve tendência (P= 0,06) de a excreção fecal ser maior para os valores preditos pelo Cr_2O_3 comparado aos preditos pelo TiO_2 (Tabela 2). O Cr_2O_3 superestimou a excreção fecal quando comparado com os valores da coleta total de fezes (P= 0,02), e houve tendência do TiO_2 também superestimar a produção fecal (P= 0,07). Além disso, o consumo de forragem e o consumo de MS total também foram superestimados pelo Cr_2O_3 (P= 0,03), e não houve diferença quando da utilização do TiO_2 (P= 0,80). A digestibilidade aparente da MS e da MO foram subestimadas pelo Cr_2O_3 (P= 0,01) e pelo TiO_2 (P= 0,05) quando comparada com os valores provenientes da coleta total de fezes.

Baseado na coleta total de fezes, o TiO_2 superestimou a excreção fecal em 4%, enquanto o Cr_2O_3 superestimou em 11%. Em função de ambos os marcadores superestimarem a excreção fecal as digestibilidades da MS e MO foram subestimadas. O Cr_2O_3 subestimou em 5,2 e 4,7% as digestibilidades da MS e MO, enquanto que o TiO_2 subestimou em 3,0 e 2,8%, respectivamente. Titgemeyer et al. (2001) constataram resultados similares com ambos marcadores subestimando digestibilidade, porém houve maior variação e maior subestimativa para o TiO_2.

Apesar da superestimativa da excreção fecal por ambos os marcadores, o viés médio (desvio médio entre os valores observados e estimados pelos marcadores) foi maior para o Cr_2O_3 (Tabela 3) comparado com o TiO_2 (P= 0,005). Ainda houve maior desvio para o Cr_2O_3 para as estimativas de consumo de forragem e consumo MS total (P= 0,04) e também para as estimativas de digestibilidade da MS e MO (P= 0,001).

Além disso, quando os marcadores foram comparados quanto às estimativas de excreção fecal, o Cr_2O_3 apresentou maiores valores de quadrado médio do erro predito (QMEP) e raiz quadrada média do erro predito (RQMEP), e a maior parte do QMEP foi associada com o viés médio (Tabela 4). As estimativas das digestibilidade da MS e MO apresentaram menores valores de QMEP e RQMEP para o TiO_2. O mesmo padrão de resposta houve para o consumo de forragem e consumo de MS total com menores valores relacionados ao TiO_2. O valor de correção de viés foi maior para o TiO_2 em todas as variáveis estudadas nesse estudo. Além disso, o erro residual foi maior para as estimativas com o Cr_2O_3.

Tabela 2 – Comparação entre os valores observados e estimados para ambos marcadores quanto à excreção fecal, consumo e digestibilidade

	Óxido crômico		Dióxido de titânio		EPM	Valor de P		
	Estimado	Observado	Estimado	Observado		Marc.	Dia	Marc. X Dia
Excreção fecal (kg)[1]	3,66	3,30	3,37	3,23	0,07	0,06	0,34	0,83
Consumo de forragem (kg)[2]	5,59	5,47	5,85	5,84	0,19	0,03	0,38	0,59
Consumo total (kg)[2]	11,59	11,47	11,85	11,83	0,26	0,03	0,37	0,58
Digestibilidade aparente da MS (%)[3]	68,80	72,60	71,80	74,00	1,67	0,02	0,93	0,93
Digestibilidade aparente da MO (%)[4]	69,90	73,41	73,10	75,20	1,85	0,03	0,86	0,95

[1] Diferença significativa (P= 0,02) entre os valores da coleta total de fezes e os estimados pelo óxido crômico, e houve tendência entre os valores da coleta total de fezes e os estimados pelo dióxido de titânio (P= 0,07)

[2] Diferença significativa (P= 0,03) entre os valores observados de consumo e os estimados pelo óxido crômico, e não houve diferença entre os valores observados de consumo e os estimados pelo dióxido de titânio (P= 0,80)

[3] Diferença significativa (P= 0,01) entre os valores observados e os estimados pelo óxido crômico, e também entre os valores da observados e os estimados pelo dióxido de titânio (P= 0,05)

[4] Diferença significativa (P= 0,02) entre os valores observados e os estimados pelo óxido crômico, e também entre os valores da observados e os estimados pelo dióxido de titânio (P= 0,04)

Tabela 3 – Comparação do viés (desvio entre os valores observados e estimados por cada marcador) entre as estimativas com o óxido crômico e dióxido de titânio quanto à excreção fecal, consumo e digestibilidade

	Viés médio		EPM	Valor de P		
	Óxido crômico	Dióxido de titânio		Marc.	Dia	Marc. X dia
Excreção fecal (kg)	-0,36	-0,13	0,07	0,005	0,32	0,46
Consumo de forragem (kg)	-0,12	-0,012	0,01	0,04	0,37	0,89
Consumo total (kg)	-0,12	-0,012	0,011	0,04	0,37	0,89
Digestibilidade aparente da MS (%)	3,8	2,2	0,34	0,001	0,31	0,97
Digestibilidade aparente da MO (%)	3,5	2,1	0,28	0,001	0,33	0,96

Tabela 4 – Quadrado médio do erro predito (QMEP), raiz quadrada média do erro predito (RQMEP), correção de viés (CrV), erro residual e decomposição do viés das estimativas de excreção fecal, consumo e digestibilidade por ambos marcadores

		QMEP	RQMEP	CrV	Erro residual	Decomposição do QMEP		
						Viés	Coef. angular	Aleatório
Excreção fecal (kg)	Cr_2O_3	0,19	0,44	0,62	0,253	65,3	0,4	34,3
	TiO_2	0,06	0,25	0,78	0,214	27,7	30,8	41,5
Consumo de forragem (kg)	Cr_2O_3	0,11	0,32	0,88	0,297	76,4	10,6	13,0
	TiO_2	0,03	0,16	0,98	0,160	50,7	6,1	43,2
Consumo total (kg)	Cr_2O_3	0,11	0,32	0,88	0,297	77,0	9,2	13,8
	TiO_2	0,02	0,14	0,97	0,139	50,2	7,5	42,3
Digestibilidade aparente da MS (%)	Cr_2O_3	15,2	3,9	0,72	0,877	95,4	1,1	3,5
	TiO_2	5,7	2,4	0,84	0,959	83,8	0,2	16,0
Digestibilidade aparente da MO (%)	Cr_2O_3	14,2	3,8	0,71	1,480	95,4	1,2	3,4
	TiO_2	5,1	2,3	0,82	0,938	83,5	0,4	16,1

Houve maior viés médio para as estimativas de excreção fecal com Cr_2O_3 (-0,36) quando comparado com o TiO_2 (-0,13). Além disso, os maiores valores de QMEP e menores valores de correção do viés (CV) indicam menor acurácia das estimativas com o Cr_2O_3. Ainda, os maiores valores de RQMEP e do erro residual sugerem menor precisão das estimativas com Cr_2O_3.

As estimativas de digestibilidade da MS e MO também foram afetadas pelos marcadores e maior viés médio também foi associado às estimativas com o uso do Cr_2O_3, sendo que o valor de QMEP foi quase três vezes menor e o CV 16% superior, e a RQMEP foi duas vezes menor e o erro residual 10% menor nas estimativas com o TiO_2. Assim, tanto a acurácia quanto a precisão foram melhores quando o TiO_2 foi utilizado. Ferreira et al. (2009) não observaram diferenças significativas entre ambos marcadores na estimativa da digestibilidade da MO, porém os autores relataram que a digestibilidade estimada com TiO_2 foi mais próxima dos valores observados.

O consumo de forragem e o consumo de MS total foram afetados pelos marcadores e o Cr_2O_3 superestimou em maior grau essas variáveis quando comparado com o TiO_2. Apesar dessas diferenças, ambos os marcadores demonstraram ser eficientes em estimar o consumo de animais a pasto. Soares et al. (2004) detectaram diferenças de 9,2% no consumo entre os valores observados e estimado com o Cr_2O_3, enquanto Glindemann et al. (2009) relataram diferença de 7,8% entre os valores observados e estimados pelo TiO_2. As diferenças no presente experimento foram menores do que nos trabalhos supracitados, sendo 0,2% para o TiO_2 e de 2,1% para o Cr_2O_3 quando ambos foram comparados com os valores observados de consumo. Assim, ambos os marcadores estimaram de maneira satisfatória o consumo dos animais (Figura 1 e Figura 2).

No experimento II, os valores observados, ou seja, tidos como base, foram considerados aqueles preditos pelo NRC (2001). Embora devemos considerar as limitações dessas estimativas que podem não representar fielmente o consumo dos animais, porém medidas diretas da excreção fecal em condições de pastejo pelos animais com o uso de sacolas e arreios pode levar a erros devido a perda parcial de fezes, aumentar o estresse, alterar o comportamento ingestivo e o consumo (MAYES; DOVE, 2000). Assim, métodos diretos também podem ocasionar erros e como o objetivo é comparar as estimativas por ambos marcadores, o uso do consumo predito pelo NRC (2001) como base é apropriado.

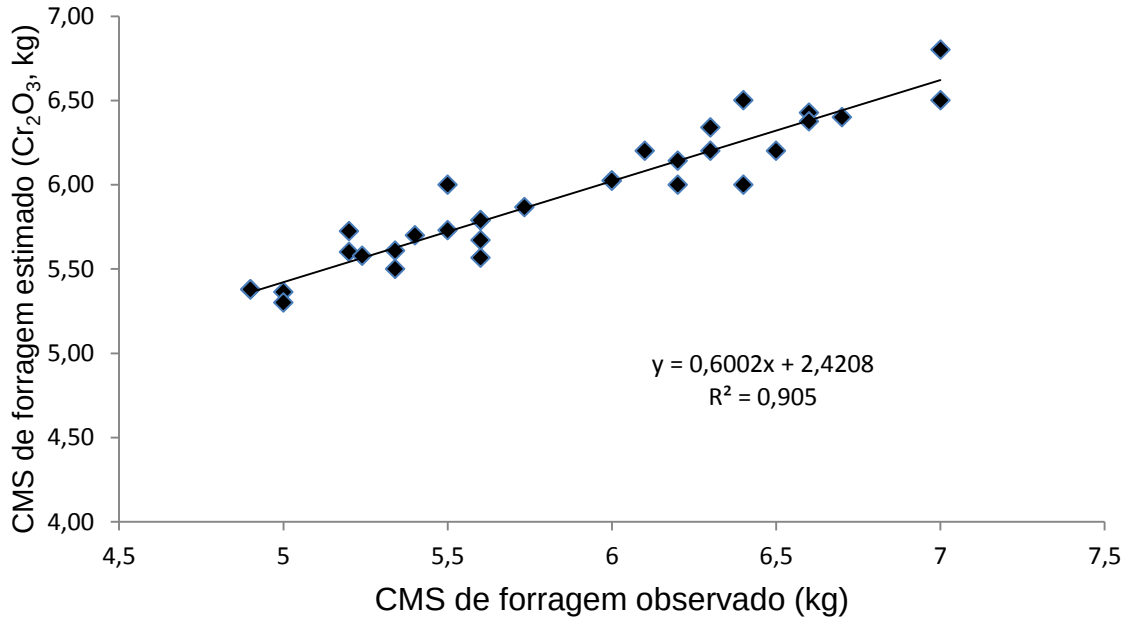

Figura 1 – Consumo de forragem observado e estimado pelo óxido crômico

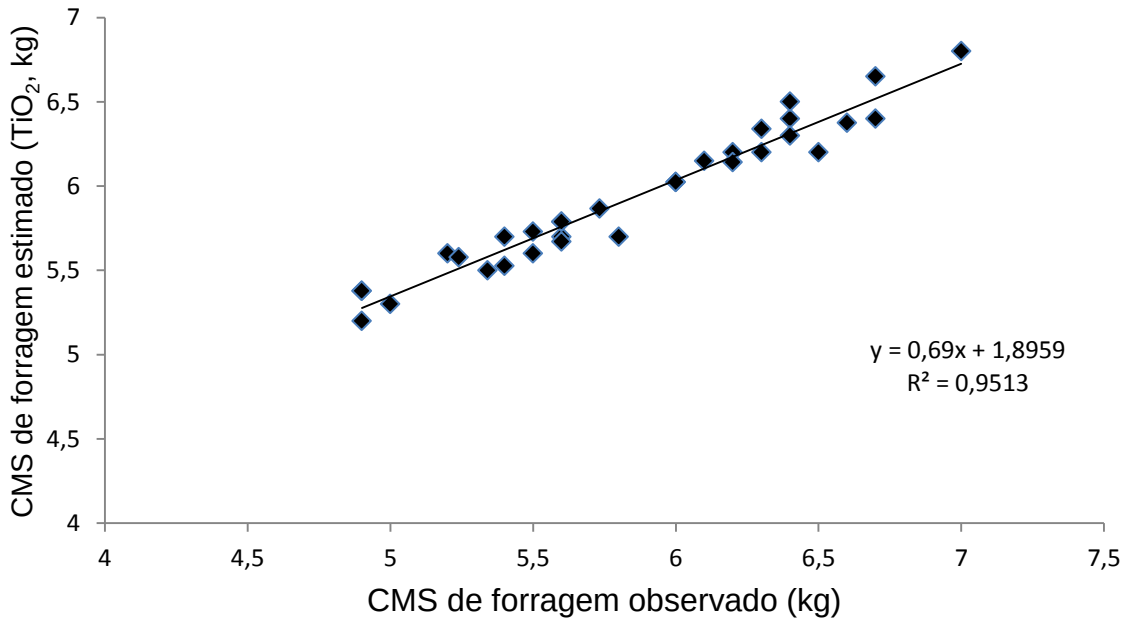

Figura 2 – Consumo de forragem observado e estimado pelo dióxido de titânio

No experimento II não foram observadas interações entre os marcadores e os tratamentos (P= 0,64). Um bom marcador externo é inerte e passa por meio do trato gastrointestinal sem interferir no metabolismo. Assim, nenhum marcador interagiu com os tratamentos conforme esperado e indica que ambos foram inertes durante sua passagem. O consumo de forragem e o consumo de MS total foram afetados pelos tratamentos (P= 0,001), sendo maior no tratamento em que as vacas

receberam SCOP, em função da maior produção observada nesse tratamento, no entanto esses resultados serão discutidos no capitulo II dessa dissertação.

O consumo de forragem e o consumo de MS total foram superestimados comparados com os valores preditos pelo NRC (2001) (P= 0,01). Em contrapartida, os valores estimados pelo dióxido de titânio não diferiram dos valores preditos pelo NRC (2001) (Tabela 5).

Tabela 5 – Consumos de concentrado, de forragem e de matéria seca total das estimativas com ambos marcadores e preditos pelo NRC (2001)

	Predito	Cr_2O_3	TiO_2	EPM	P
Consumo concentrado (kg)	8,0	8,0	8,0	-	-
Consumo de forragem (kg)	9,2a	11,4b	9,7a	0,45	0,001
Consumo MS total (kg)	17,2a	19,4b	17,7a	0,45	0,001

*Letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey

Além disso, houve maior viés médio (diferença entre o predito pelo NRC e o estimado por cada marcador) para o Cr_2O_3 (-2,3 kg) quando comparado com o TiO_2 (- 0,5 kg). Ainda, os valores de QMEP (4,4 vs. 2,3) e RQMEP (2,1 vs. 1,5) seguiram a mesma tendência (Tabela 6). Esses dados indicam que as estimativas com o TiO_2 foram mais precisas e acuradas e mais próximas dos valores preditos pelo NRC (2001).

Em suma, os resultados obtidos nos experimentos I e II indicam o potencial uso TiO_2 como marcador externo, com medidas mais precisas e acuradas que o Cr_2O_3 e mais próximas dos valores preditos pelo NRC (2001) e com mais segurança em função dos possíveis efeitos carcinogênicos do uso do Cr_2O_3.

Tabela 6 – Quadrado médio do erro predito (QMEP), raiz quadrada média do erro predito (RQMEP) e decomposição do viés das estimativas de consumo por ambos marcadores

		Viés médio	SEM	QMEP	RQMEP	Decomposição do QMEP		
						Viés	Coef. angular	Aleatório
Consumo de forragem (kg)	Óxido crômico	-2,3	0,38	4,4	2,1	72,0	8,1	19,9
	Dióxido de titânio	-0,5	0,33	2,3	1,5	56,8	14,3	28,9
Consumo MS total (kg)	Óxido crômico	-2,3	0,38	4,4	2,1	72,4	14,7	12,9
	Dióxido de titânio	-0,5	0,34	2,3	1,5	57,2	15,6	27,2

4.4 Conclusão

Em conclusão, o dióxido de titânio apresentou medidas de excreção fecal, consumo e digestibilidade mais precisas e acuradas que o óxido crômico e mais próximo dos valores preditos pelo NRC (2001) e com mais segurança em função dos possíveis efeitos carcinogênicos do uso do cromo. Assim, o dióxido de titânio pode ser utilizado como marcador externo para animais mantidos em pastagens.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 12nd. ed. Washington, 1990. 1094 p.

BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 830-833, 2000.

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H. **Prediction and improved estimation in linear models**. London: Wiley, 1977. 273 p.

CARVALHO, P.C.F.; KOZLOSKI, G.V.; RIBEIRO FILHO, H.M.N.; REFFATTI, M.V.; GENRO, T.C.M.; EUCLIDES, V.P.B. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 151-170, 2007.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; HENRIQUES, L.T.; FREITAS, S.G.; PAULINO, M.F. Influence of incubation time and particles size on indigestible compounds contents in cattle feeds and feces obtained by in situ procedures. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 335–342, 2008.

CHAGAS, L.J. **Teor de proteína no concentrado de vacas de vacas no terço inicial de lactação, mantidas em pasto de capim elefante.** 2011. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

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

FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I; PAIXÃO, M.L.; PAULINO, M.F.; VALADARES, R.F.D. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 8, p. 1568-1573, 2009.

FONSECA, L.; MEZZALIRA, J.C.; BREMM, C.; FILHO, R.S.A.; GONDA, H.L.; CARVALHO, P.C.F. Management targets for maximizing the short-term herbage intake rate of cattle grazing in sorghum bicolor. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 145, p. 205–211, 2012.

GLINDEMANN, T.; TAS, B.M.; WANG, C.; ALVERS, S.; SUSENBETH, A. Evaluation of titanium dioxide as an inert marker for estimating fecal excretion in grazing sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 152, p. 186–197, 2009.

JAGGER, S.; WISEMAN, J.; COLE, D.J.A.; CRAIGON, J. Evaluation of inert markers for the determination of ileal and fecal apparent digestibility values in the pig. **British Journal of Nutrition**, London, v. 68, p. 729–739, 1992.

LIN, L.I.-K. Assay validation using the concordance correlation coefficient. **Biometrics**, Paris, v. 48, p. 599–604,1992.

MAYES, R.W.; DOVE, H. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. **Nutrition Research Reviews**, London, v. 13, p. 107–138, 2000.

MERCHEN, N.R. Digestion, absorption and excretion in ruminants, In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal:** digestive physiology and nutrition. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1988. p. 172-201.

MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V.; HESS, B.W. Technical note: a procedure for preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, New York, v. 82, p. 179-193, 2004.

_____. Excretion of titanium dioxide and chromic oxide in duodenal digest and feces of ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 63, p. 135–214, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.

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.

RODRIGUES, P.H.M.; GOMES, R.C.; SIQUEIRA, R.F.; MEYER, P.M.; RODRIGUES, R.R. Acurácia, precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca determinada com o uso de indicadores em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 5, p. 1118-1126, 2010.

SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E. VALENTE, T.N.P.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 1, p. 174-182, 2011.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT:** release 9.0. Cary, 2002.

SOARES, J.P.G.; BERCHIELLI, T.T.; AROEIRA, L.J.M.; DERESZ, F.; VERNEQUE, R.S. Estimativas de consumo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), fornecido picado para vacas lactantes utilizando a técnica do óxido crômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 811-820, 2004.

SWEENEY, R.A. Generic combustion method for determination of crude protein in feeds. **Journal of Official Analytical Chemists**, San Diego, v. 72, p. 770-774, 1989.

TEDESCHI, L.O. Assessment of the adequacy of mathematical models. **Agricultural Systems**, New York, v. 89, p. 225–247, 2006.

TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J.; GREENWOOD, R.H.; LÖEST, C.A. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. **Journal of Animal Science**, New York, v. 79, p. 1059–1063, 2001.

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**, Lancaster, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VEGA, A.; POPPI, D.P. Extent of digestion and rumen condition as factors affecting passage of liquid and digest particles in sheep. **Journal of Agriculture Science,** Cambridge, v.128, p. 207–215, 1997.

VOLTOLINI, T.V.; SANTOS, F.A.P.; MARTINEZ, J.C.; IMAIZUMI, H.; CLARINDO, R.L.; PENATI, M.A. Milk production and composition of dairy cows grazing elephant grass under two grazing intervals. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, p. 121–127, 2010.

WILDMAN, E.E.; JONES, J.E.; WAGNER, P.E.; BOMAN, R.L.; TROUTT H.F.; LESCH, T.N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 65, p. 495–501, 1982.

5 FONTES DE GORDURA PARA VACAS EM INÍCIO DE LACTAÇÃO MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL SOBRE O DESEMPENHO AO LONGO DA LACTAÇÃO

Resumo

O objetivou-se com esse trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de vacas em início da lactação mantidas em pastagem tropical com diferentes fontes de gordura sobre o desempenho, composição do leite, consumo, digestibilidade, balanço energético e perfil de ácidos graxos. Foram utilizadas 27 vacas em delineamento de blocos casualizados, submetidas aos seguintes tratamentos: a) Controle (sem adição de gordura); b) 400g de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); c) 400g de sais de cálcio de óleo de palma (SCOP). Os tratamentos foram adicionados ao concentrado, totalizando 8 kg de MS de concentrado dia^{-1} durante 90 dias (dos 15 aos 105 dias em lactação). Durante esse período os animais pastejaram área de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameron). Após o período de suplementação com gordura, o efeito residual da suplementação lipídica foi avaliado até o final da lactação (280 DEL). Durante o período residual (106 aos 280 DEL), os animais foram submetidos ao mesmo manejo e receberam o mesmo suplemento concentrado sem gordura suplementar e como volumoso a silagem de milho. A suplementação de SCOS aumentou a produção de leite quando comparado com o grupo controle (24,2 vs. 26,8 kg dia^{-1}), porém foi inferior a produção dos animais suplementados com SCOP com produção média de 29,0 kg dia^{-1} no período de suplementação. Apesar do aumento em produção de leite com SCOS, nesse tratamento o teor de gordura do leite reduziu significativamente quando comparado com o grupo controle (2,8 vs. 3,5%) e ao SCOP (3,3%). Ambas às fontes de gordura deprimiram o teor de proteína do leite. Além disso, houve decréscimo do consumo de matéria seca (CMS) em função da suplementação com SCOS quando comparado com o grupo controle (17,2 vs. 17,9 kg MS dia^{-1}) e com o SCOP (17,2 vs. 18,0 kg MS dia^{-1}). A digestibilidade aparente da MS foi maior para o SCOP comparado ao SCOS (66,5 vs. 63,3%) e do SCOS foi maior que do controle (63,3% vs. 60,3%). A digestibilidade aparente da FDN foi reduzida com a suplementação com SCOS. O peso corporal e o ECC foram maiores para os animais recebendo SCOS, indicando menor mobilização de reservas. A energia secretada por kg de leite produzido foi menor no tratamento com SCOS, seguido pelo SCOP e então pelo controle. Durante o período residual a produção do grupo que recebeu SCOP continuou maior e refletiu na produção ao longo de toda a lactação (7328 kg lactação^{-1}) comparado ao SCOS (6575 kg lactação^{-1}) e ao controle (6094 kg lactação^{-1}). A suplementação com SCOS aumentou a produção de leite, mas reduziu o teor de gordura do leite e permitiu menor perda de reservas corporais durante o período de suplementação. A suplementação com SCOP aumentou a produção de leite e sólidos no leite ao longo de toda a lactação.

Palavras-chave: Capim-elefante; Gordura protegida; Lactação total

Abstract

This study was carried out to evaluate the effects of fed different sources of fat to early lactation cows grazing tropical pasture on performance, milk composition and production variables throughout lactation. Twenty-seven cows in a randomized block design were used, submitted to the following treatments: a) control (no added fat); b) 400g of calcium salts of soybean oil (CSSO); c) 400g of calcium salts of palm oil (CSPO). Treatments were added to the concentrate, totaling 8 kg of DM during 90 days. During the experimental period the animals had access to the grazing area of elephant grass (*Pennisetum purpureum* cv. Cameron). After the experimental period comprised between 15 and 105 DIM, the residual effects of lipid supplementation was evaluated until the end of lactation (280 DIM). During the residual period, the animals were subjected to the same management and received the same concentrate and corn silage as roughage. The CSSO supplementation increased milk production compared with control group (24.2 vs. 26.8 kg day^{-1}), but was lower than the production of animals supplemented with CSPO averaging 29.0 kg per day. Despite the increase in milk yield, CSSO reduced milk fat compared with control (2.8 vs. 3.5%) and CSPO (3.3%). Protein content was reduced for both sources of fat. In addition, there was a decrease in dry matter intake (DMI) in response to supplementation with CSSO compared with control (17.2 vs. 17.9 kg DM ha^{-1}) and with CSPO (17.2 vs. 18.0 kg DM day^{-1}). The apparent digestibility was also affected by the addition of fat, and DM digestibility was greater in CSPO than with CSSO (66.5 vs. 63.3 %) and CSSO was greater than the control (63.3 vs. 60.3%). The NDF digestibility was not affected by the addition of CSPO compared to the control, but this variable was reduced by supplementation with CSSO. Body weight and BCS were higher for animals receiving CSSO indicating lower reserve mobilization. The energy secreted per kg of milk produced was lower in the treatment with CSSO, followed by CSPO and then control. During the residual period milk yield continued higher in CSPO and reflected in higher production throughout lactation (7328 kg lactation^{-1}) compared with CSSO (6575 kg lactation^{-1}) and control (6094 kg lactation^{-1}). The supplementation with CSSO increased milk production, but reduced milk fat and allowed less loss of body reserves. Supplementation with CSSO increased performance throughout lactation.

Keywords: Elephant grass; Total milk yield; Rumen protected fat

5.1 Introdução

A produção de leite no Brasil é baseada em sistemas que exploram as pastagens tropicais na maior parte do ano e o nível de produção de leite relatado nesses sistemas estão na faixa de 12 a 14 kg de leite animal dia^{-1} na estação das chuvas (DERESZ et al., 2003). Cowan (1996) afirmou que o limite de produção de leite de vacas em pastagens tropicais não ultrapassa 15 kg dia^{-1}, sendo esse limite determinado por fatores que limitam a colheita de forragem, pelo conteúdo de fibra e pela baixa digestibilidade da forragem. Como consequência, os sistemas baseados

apenas na utilização de pastagens não atendem a demanda de nutrientes para altas produções individuais (SANTOS et al., 2005). 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; JUCHEM, 2000).

Vacas no início de lactação apresentam um desequilíbrio entre as necessidades dietéticas e o consumo de nutrientes, fazendo com que as necessidades energéticas e proteicas sejam supridas pela mobilização de reservas corporais (INGVARTSEN; ANDERSEN, 2000). Essa mudança brusca nas exigências nutricionais, não compensada pela ingestão de matéria seca, levam os animais a um quadro de balanço energético negativo (ARTUNDUAGA et al., 2011).

Quando a mobilização de reservas corporais é muito extensa, podem ocorrer desordens metabólicas comprometendo a saúde e a produção dos animais (DUSKE, et al., 2009). Animais de alto mérito genético mantidos em pasto, especialmente pastos de clima tropical, podem ter um balanço negativo mais acentuado em função das limitações impostas ao consumo de nutrientes. O uso de suplementos nesta fase é essencial para minimizar a intensidade da mobilização de reservas. Porém, se houver a utilização de fontes de carboidratos não fibrosos em quantidades excessivas, outros distúrbios metabólicos, como a acidose, podem ocorrer ou afetar a digestão de demais componentes da dieta. Para contornar esta situação, tem sido proposto o aumento na densidade calórica via inclusão de lipídios.

Estudos revisados por Bargo et al. (2003) sugeriram haver efeito positivo no uso de lipídios saturados quando a dieta é constituída principalmente por forragem, resultando em aumento na gordura do leite. Esses mesmos autores relataram que a inclusão de lipídios para vacas mantidas em pastagens, promove um aumento médio de 6% na produção de leite. Outro benefício foi constatado por Vilela et al. (2002) que suplementaram com gordura, vacas mantidas em pastagem, nos primeiros 90 dias de lactação e verificaram aumento na persistência, no pico de produção e na lactação total. Isso evidencia um benefício residual no fornecimento de gordura no início da lactação, tanto para minimizar o balanço energético negativo, quanto para aumentar a produção da lactação.

Dessa forma, em situações de pastos tropicais manejados com adubações corretivas e/ou nitrogenadas com colheita no ponto fisiológico ideal, produzem forragens com valores nutricionais satisfatórios, com teores elevados de proteína

bruta próxima a 20%. Sendo assim, o principal limitante à produção de leite é a restrição imposta pelo efeito de enchimento ruminal, que resulta em baixa ingestão de energia, situação que pode ser agravada especialmente no início da lactação, na qual o consumo é limitado e as exigências nutricionais são elevadas, de modo que o uso de lipídios para vacas em lactação constitui-se em ferramenta de manejo nutricional para suprir o déficit energético quando estas são mantidas em pastagens tropicais.

No entanto pouco se sabe sobre a suplementação lipídica para animais mantidos em pastagens tropicais, e são de nosso conhecimento apenas dois trabalhos realizados com a suplementação de lipídios para animais em pastagens tropicais. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de vacas em início de lactação mantidas em pastagem tropical com diferentes fontes de gordura sobre o desempenho, composição do leite e variáveis produtivas durante toda a lactação.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Descrição do experimento, delineamento e animais

O experimento foi conduzido nas instalações do Departamento de Zootecnia da Esalq/USP entre os meses de Dezembro de 2012 à outubro de 2013. Foram utilizadas 27 vacas mestiças Holandês X Jersey provenientes do rebanho da ESALQ – USP, compostas por 18 multíparas e 9 primíparas, com média de 15 ± 3,1 dias em lactação (DEL), 20,5 ± 2,1 kg de leite dia^{-1} e 478 ± 44 kg de peso corporal no início do experimento. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, em que os animais foram agrupados pelo número de lactações (primíparas ou multíparas), e dentro desses grupos por produção de leite e DEL, perfazendo 9 blocos. Todos os animais receberam previamente ao início do experimento a mesma dieta e manejo.

As vacas foram submetidas aos seguintes tratamentos: a) Controle (sem adição de gordura); b) 400g de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); c) 400g de sais de cálcio de óleo de palma (SCOP). Os tratamentos foram adicionados ao concentrado, fornecido duas vezes ao dia as 04h00 e as 15h00, antes da ordenha, totalizando 8 kg de MS de concentrado dia^{-1} durante 90 dias. Os concentrados foram isoproteicos e a adição de gordura foi feita retirando o ingrediente milho (Tabela 2).

Durante o período experimental os animais tiveram acesso a pastagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameron).

Após o período de suplementação com gordura que compreendeu na média dos 15 aos 105 DEL, os efeitos residuais da suplementação lipídica foram avaliados dos 106 DEL até o final da lactação (280 DEL). Durante o período residual, os animais foram submetidos ao mesmo manejo e receberam o mesmo suplemento concentrado (Tabela 3) fornecido na proporção de 1 kg de concentrado para cada 3 kg de leite produzidos ajustado dentro da produção média de cada bloco, ministrado duas vezes ao dia antes da ordenha. Além disso, durante todo o período residual os animais receberam como volumoso a silagem de milho.

Os ingredientes dos concentrados e a silagem foram amostrados quinzenalmente e armazenados congelados à -18ºC. Ao final do período experimental as amostras foram descongeladas, secas em estufa de ventilação forçada a 55ºC por 72 horas, compostas por ingrediente e por período (30 dias), moídas em moinho do tipo Willey em peneira de 1 mm e mantidas em recipientes plásticos totalmente vedados em temperatura ambiente para posteriores análises laboratoriais.

5.2.2 Manejo da pastagem e mensuração de variáveis relacionadas ao pasto

Os animais permaneceram em pastagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameron) em área de 5 ha. A pastagem foi adubada com 60 kg de nitrogênio (N) a cada ciclo de pastejo. O sistema de pastejo utilizado foi o rotativo baseado na altura do dossel de 103 cm como critério de entrada, como previamente sugerido por Voltolini et al. (2010). Todos os animais pastejaram em lote único piquetes de 2000 m², e permaneceram em média 1 dia em cada, sempre tendo acesso ao novo piquete na parte da tarde, e com acesso ilimitado a água e área de sombra. A saída dos animais do lote experimental foi prevista quando o dossel tivesse 60 cm de altura e em seguida, um lote de repasse com animais de menor produção foi utilizado para rebaixar o dossel entre 40 e 50 cm.

A altura média do dossel forrageiro foi medida em cada piquete previamente a entrada e logo após a saída do lote experimental, traçando 4 linhas imaginárias paralelas e equidistantes com a amostragem feita em 5 pontos dentro de cada linha

(20 pontos por piquete). Após o repasse com o grupo de menor produção de leite, a altura do piquete foi novamente medida na mesma metodologia supracitada.

As massas de forragem em pré e pós pastejo foram determinadas pelo método destrutivo, cortando-se a planta a cinco centímetros do solo, em quatro pontos por piquete, escolhidos de forma aleatória. A moldura utilizada na coleta tinha as dimensões de 1,5m x 0,75m. As amostragens foram realizadas uma vez por semana durante todo o período experimental. O material coletado nos quatro pontos do piquete foi pesado, homogeneizado e duas subamostras de 1000g 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 55ºC por 72 horas. A segunda subamostra foi utilizada para a determinação da composição morfológica do dossel e separada em folha (lâmina foliar), 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 55ºC 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 do extrato pastejado colhidos em 20 pontos distintos dentro de cada piquete duas vezes por semana. As amostras foram secas da mesma forma como descritas acima, moídas em moinho do tipo Willey em peneira de 1 mm, compostas por mês e mantidas em recipientes plásticos vedados em temperatura ambiente até a realização das determinações químicas.

5.2.3 Produção e composição do leite

Durante o período de suplementação com gordura, as vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia as 04h30 e as 16h00 e a produção foi mensurada a cada dois dias. Além disso, foram coletadas amostras de leite para determinação da composição química a cada 6 dias em tubo coletor plástico de 100 mL contendo 2-bromo 2-nitropropano-1-3-diol, homogeneizada e armazenada em geladeira a 8ºC 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: gordura, proteína, caseína, lactose e

nitrogênio ureico pelo processo de infravermelho; 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 por meio da fórmula descrita por Bremmer et al., (1997):

$$\text{PLCG} = ((0{,}4324\ x\ PL\ (kg)) + (16{,}216\ x\ produção\ de\ gordura\ (kg))$$

Durante o período residual (106 aos 280 DEL), a produção de leite foi mensurada semanalmente e amostras para a composição do leite foram colhidas a cada 2 semanas, para as mesmas análises e procedimentos descritos acima.

5.2.4 Excreção fecal e consumo

Para estimar o consumo de forragem todas as vacas foram dosadas oralmente com dióxido de titânio fornecido duas vezes ao dia na forma de “péletes” contendo 10 g cada, durante 15 dias. As vacas receberam o marcador três vezes durante o experimento (3 períodos), com início nos dias 15, 45 e 75 do período experimental, seguidos de 10 dias de adaptação e 5 de coleta. Além disso, durante o período residual as vacas também foram dosadas com dióxido de titânio na mesma metodologia descrita acima, iniciando com média de 200 DEL. A coleta de fezes foi realizada duas vezes ao dia, antes de cada ordenha. Ao final as amostras foram compostas por vaca e período, secas em estufa de ventilação forçada à 55º C durante 72h, moídas em moinhos a 1 mm e armazenadas em frascos plásticos à temperatura ambiente para posterior análise, sendo uma subamostra utilizada para as determinações químicas e calculo das digestibilidades outra para a determinação de titânio e calculo do consumo.

As amostras de fezes foram analisadas para a concentração de titânio no laboratório de tecidos vegetais do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP. Para a determinação da concentração de titânio foi empregada a metodologia descrita por Myers et al. (2004), em que as amostras de fezes foram digeridas em ácido sulfúrico e, realizada a leitura em espectrofotômetro UV a 410 nm, sendo que foi usada uma curva de calibração com concentração conhecida de titânio para interpolação dos dados.

Foi utilizada a concentração de FDNi para a determinação da indigestibilidade necessária ao cálculo das estimativas de consumo. Amostras de fezes de cada animal, concentrado, forragem e silagem moídos a 1 mm, foram acondicionadas em bolsas filtro F-57 (Ankom®) e incubados em triplicatas no rúmen de uma vaca fistulada por 240 horas (CASALI et al., 2008). 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® (100º C por 1 hora). Posteriormente, as bolsas filtro foram lavadas com água quente (6 lavagens) e com acetona (1 lavagem) e em seguida foram secas em estufa por 12 horas e o resíduo foi considerado o FDNi. O conteúdo de FDNi do concentrado, da forragem e da silagem foi dividido pelo FDNi das fezes de cada animal para o calculo da indigestibilidade.

A excreção fecal (EF) foi calculada conforme a formula abaixo:

$$\text{EF } (\text{kg dia}^{-1}) = \frac{Quantidade\ do\ marcador\ administrado}{Concentração\ do\ marcador\ nas\ fezes}$$

A contribuição fecal proveniente do concentrado (EF concentrado) foi determinada como sendo a quantidade de concentrado oferecida, multiplicada por sua indigestibilidade. Do valor obtido de EF foi descontada a contribuição do concentrado e o valor obtido foi dividido pela indigestibilidade da forragem ou silagem. Sendo assim, o consumo de pasto ou consumo de silagem foi calculado com a equação:

$$\text{Consumo de pasto ou silagem (kg)} = \frac{EF - EF\ concentrado}{Indigestibilidade\ do\ capim\ ou\ silagem}$$

5.2.5 Análises químicas e digestibilidade aparente dos nutrientes

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP. Amostras de concentrado, forragem, silagem e fezes foram secas em estufa de ventilação forçada à 105º C durante 24h para determinação da MS. O conteúdo de cinzas foi determinado após combustão à 550º C durante 4h. O teor de extrato etéreo (EE) foi determinado de acordo com a

metodologia proposta pela AOAC (1990), sendo que para a extração de gordura dos sabões de cálcio foi utilizado o ácido acético glacial na proporção de 1:10 com o éter de petróleo de acordo com Sukhija e Palmquist (1988). O conteúdo de N foi determinado pelo método de combustão de Dumas (Leco FP-2000 N analyzer) de acordo com Sweeney (1989). Os teores de FDN, FDA e lignina foram determinados usando o método de Van Soest et al. (1991), com sulfito de sódio para todas as amostras e α – Amilase para as amostras de concentrado.

As digestibilidades aparentes da MS, MO, PB, FDN (FDN corrigida para cinzas e proteína), e EE presentes na dieta foram estimadas utilizando os valores individuais de consumo, excreção fecal calculada a partir da utilização do indicador dióxido de titânio e da concentração dos nutrientes nos alimentos e fezes, conforme equação apresentada abaixo:

$$\text{DAN } (\%) = \frac{(Consumo\ x\ CN) - (Excreção\ fecal\ x\ CN)}{(Consumo\ X\ CN)}\ X100$$

Em que:

DAN (%) é a digestibilidade aparente do nutriente;

CN é a concentração do nutriente no alimento ou fezes.

5.2.6 Comportamento Animal, peso e ECC

As avaliações do comportamento animal (pastejo, ruminação, ócio e outros) de cada animal durante o período experimental foram feitas visualmente a cada 30 dias durante 24 h, com intervalos de 10 minutos entre as visualizações. Nos períodos em que os animais estavam a caminho da sala de ordenha ou do piquete e durante a ordenha não foram feitas tais observações, sendo consideradas outras atividades.

As vacas foram pesadas para avaliação da variação do peso corporal durante o período experimental e residual, sempre a cada 30 dias após a ordenha da manhã. No mesmo dia foram feitas as avaliações de escorre de condição corporal (ECC), por dois avaliadores com escala variando de 1 a 5 conforme a metodologia proposta por Wildeman et al. (1992).

5.2.7 Consumo de energia, energia secretada no leite e eficiência

O NDT foi calculado a partir da equação de Weiss et al. (1992) utilizando os valores da composição química dos alimentos e da digestibilidade aparente dos nutrientes calculados a partir dos dados obtidos no experimento. Em função de a equação supracitada levar em conta um fator de ajuste de -7 para a correção fecal para corrigir os valores de digestibilidade verdadeira para aparente, nesse estudo em virtude do uso do valor de digestibilidade aparente, não foi aplicado o fator de correção. O valor de energia liquida de lactação (ELL) foi calculado de acordo com a equação proposta pelo NRC (2001). O consumo de energia liquida de lactação foi obtido por meio do consumo de forragem e de concentrado multiplicado pelo valor de ELL da dieta. Todos os valores de ELL foram obtidos com as equações do NRC (2001). Para o calculo da ELL por kg de leite, foi adotada a equação do NRC (2001):

$$ELL\ (Mcal) = (0{,}0929 \times gordura\ \%) + (0{,}0563 * proteína\ \%) + (0{,}0395 \times Lactose\%)$$

A quantidade de ELL secretada por dia no leite foi calculada usando a equação acima multiplicada pelo volume de leite produzido. A eficiência de uso de energia foi calculada dividindo-se a ELL secretada no leite pelo consumo de ELL.

5.2.8 Variáveis sanguíneas

A cada 30 dias do período experimental foram coletadas amostras de sangue após 4 horas do fornecimento do concentrado. O sangue foi retirado por meio de punção na veia coccígea em tubos com vácuo contendo conservante fluoreto de sódio ou EDTA, e centrifugado a 3200 RPM por 15 minutos. 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, com filtro de absorbância de 505 nanômetros (nm). Uma alíquota de 10 µL da amostra foi pipetada em tubos tipo “eppendorfs”, acrescida de 400 µL de reagente contido no kit. Após incubação de 10 minutos em banho-maria à 39º C, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de glicose. A curva de calibração construída apresentou R^2= 0,997.

A determinação de N ureico no plasma foi realizada a partir do kit enzimático HK Liquiform (Ref. 104 - LABTEST Diagnóstica S.A.) por espectrofotometria, com filtro de absorbância de 340 nm. Uma alíquota de 10 µL da amostra foi pipetada em tubos tipo “eppendorfs”, acrescida de 1 mL de reagente contido no kit. Após incubação de 10 minutos em banho-maria à 37º C, foi realizada a leitura da absorbância. A curva de calibração construída apresentou R^2= 0,99.

A determinação dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi realizada com o kit enzimático NEFA (Ref. FA115 – Randox Laboratories), com leitura em espectrofotômetro utilizando filtro de absorbância de 540nm. O padrão interno (1 mmol/L) foi diluído em água destilada para obtenção da curva de calibração de 0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mmol/L. Dez µL de amostras de plasma foram pipetados em tubos tipo “eppendorfs” seguidas de 200 µL de reagente enzimático A. Em seguida, foram incubadas em estufa a 37ºC por 5 minutos. Após este período, 400 µL de reagente enzimático B foi adicionado da mesma maneira e incubado por mais 5 minutos, sendo a leitura das amostras realizada 3 minutos após a retirada da estufa. A curva de calibração apresentou R^2= 0,994.

5.2.9 Coleta de urina, síntese e eficiência microbiana e eficiência do uso do N

A urina foi coletada para a determinação dos derivados de purina e calculo da síntese microbiana. Quatro horas após o fornecimento dos concentrados, nos 45, 75 e 105 DEL a urina foi coletada na forma “spot” (uma amostra por animal) por meio de estímulo via massagem na vulva. Uma alíquota de 10 mL da urina coletada foi filtrada em gaze, diluída em 40 mL de H_2SO_4 (0,072N) conforme descrito por Broderick e Reynal (2009), e armazenada à -18ºC para posteriores análises.

As análises de purinas foram realizadas pelo Laboratório de Nutrição Animal do CENA/USP, em que foram determinadas as concentrações de alantoína, creatinina e ácido úrico por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As amostras foram centrifugadas a 2000 RPM. Dois mL do sobrenadante foram transferidos para outro frasco, onde foram adicionados 2,75 mL do tampão A (solução de NH4H2PO4 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.

Para os cálculos de síntese microbiana, a concentração de creatinina foi utilizada para estimar o volume de urina, assumindo o valor proposto por Chizzotti et al. (2008) de 0,213 mmol/kg PC. Após o calculo do volume urinário e tendo as concentrações de alantoína e ácido úrico, foi calculada a excreção diária de derivados de purinas de acordo com Chen e Gomes (1992). A contribuição endógena dos derivados de purina foi tida com 0,512 mmol/ kg de peso metabólico (GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003) e descontado do valor de excreção de derivados de purinas. A recuperação das purinas absorvidas como derivados de purina na urina foram tidos como 74% (GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003). Assim o calculo de purinas absorvidas foi realizado conforme equação abaixo:

$$\text{Purinas absorvidas (mmol } dia^{-1}) = \frac{Excreção\ DP - contribuição\ endógena}{Recuperação\ de\ purinas\ na\ urina}$$

A partir da quantificação das purinas absorvidas, calculou-se o N microbiano assumindo que a quantidade de N das purinas foi constante e equivalente a 70 mg N/mmol e a digestibilidade intestinal foi de 83% (CHEN; GOMES, 1992). A relação Npurina:N total assumida foi de 0,149 (ZINN; OWENS, 1986) e o valor de N microbiano foi multiplicado por 6,25 para obter-se a síntese de proteína microbiana. O calculo do N microbiano é apresentado na equação abaixo:

$$N\ microbiano\ (g\ dia) = \frac{Purinas\ absorvidas\ X\ quantidade\ de\ N\ nas\ purinas}{Relação\ Npurina{:}\ Ntotal\ x\ Dig.purinas\ x\ 1000}$$

A eficiência microbiana foi calculada como a razão entre a síntese microbiana e a quantidade de NDT consumido, conforme equação abaixo:

$$Eficiência\ microbiana\ (\%) = \frac{Síntese\ de\ proteína\ microbiana\ (g)}{Consumo\ de\ NDT\ (g)} x100$$

Para o cálculo da eficiência de uso do nitrogênio (EUN) a quantidade de N consumido foi obtida dividindo o consumo de PB pelo fator de 6,25. O N do leite foi obtido dividindo-se a produção de proteína do leite pelo fator de 6,38. Assim a EUN foi obtida conforme a formula abaixo:

$$EUN\ (\%) = \frac{N\ secretado\ no\ leite\ (g)}{Consumo\ de\ N\ (g)} x100$$

O N excretado nas fezes foi calculado a partir dos valores de excreção fecal multiplica pela concentração de N nas fezes. O N excretado na urina foi calculado de acordo com a equação proposta por Nennich et al. (2006).

5.2.10 Perfil de ácidos graxos

As amostras de alimentos utilizadas para determinação do perfil de ácidos graxos dos alimentos foram coletadas nos mesmos dias das coletas de leite para análise de perfil, sendo congeladas em freezer a -20ºC até a realização das análises. 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 de suplementação de gordura. Para determinação do perfil de ácidos graxos das amostras dos alimentos, as amostras foram descongeladas, liofilizadas e a gordura extraída e metilada segundo metodologia descrita por Sukhija e Palmquist (1988). 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 0,20µm de espessura do filme. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste, numa vazão de 1,8mL min^{-1}. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70ºC com tempo de espera 4 minutos, a 175ºC (13ºC por minuto) e tempo de espera 27 minutos, 215ºC (4ºC por minuto) e tempo de espera 9 minutos e, em seguida, aumentando 7ºC por minuto até atingir 230ºC, permanecendo por 5 minutos, perfazendo um total de 65 minutos. A temperatura do vaporizador foi de 250ºC e a do detector foi de 300ºC.

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 ácidos graxos foram obtidas por meio do software – Chromquest 4.1 (Thermo Electron, Italy).

5.2.11 Análises estatísticas

Os dados foram testados antes da análise geral final, na intenção de assegurar que todas as premissas da análise de variância fossem respeitadas. Os dados foram analisados por meio do pacote estatístico do SAS (SAS, 2002), por meio do procedimento MIXED. Para as análises com medidas repetidas no tempo (produção de leite, composição, consumo, digestibilidade dos nutrientes, comportamento animal, síntese microbiana e eficiência do uso do N) o modelo incluiu como efeitos fixos o tratamento, o dia ou período e interação tratamento X dia ou período. Como efeito aleatório foi considerado o bloco. As médias foram geradas pelo LSMEANS e comparadas pelo teste de Tukey, sendo declaradas diferentes quando o $P < 0,05$ e tendência até $P< 0,10$.

Para as variáveis sanguíneas, peso e condição corporal as análises estatísticas foram realizadas em cada período, não as considerando como medidas repetidas. O modelo misto incluiu o efeito fixo de tratamento e o efeito aleatório de blocos. As médias foram geradas pelo LSMEANS e comparadas pelo teste de Tukey, sendo declaradas diferentes quando o $P < 0,05$ e tendência até $P< 0,10$.

Em ambas as análises, a matriz de covariância foi escolhida baseada nos parâmetros de Akaike (AIC) e Bayesian (BIC).

5.3 Resultados

Para o manejo do capim elefante a altura média de entrada ficou próxima (101,4 cm) ao valor preconizado por Voltolini et al. (2010) (Tabela 1). Os animais experimentais rebaixaram o dossel na média até 62,8 cm, sendo então outro grupo de menor exigência utilizado para o pastejo até a altura de saída (45 ± 5 cm). No pré-pastejo a maior proporção do dossel foi composta por folhas (43,2 ± 8,2%) e no pós-pastejo composto por colmos (44,8 ± 9,8%). A relação folha:colmo foi em média de 1,1 no pré-pastejo e de 0,6 no pós-pastejo. Considerando os valores de massa de folhas e massa de colmos no pré e pós-pastejo fica evidente que as folhas foram o componente do dossel que mais desapareceu durante o pastejo, sendo observado um desaparecimento médio de 2606,5 kg MS ha^{-1} do componente folha, enquanto uma redução de apenas 539,1 kg MS ha^{-1} do componente colmo.

Tabela 1 – Características estruturais e composição morfológica da pastagem durante o período experimental

	Pré-pastejo		Pós-pastejo	
	Média	**EPM**	**Média**	**EPM**
Altura (cm)	101,4	1,3	62,8	2,2
Massa de forragem (kg MS ha^{-1})	10546,7	790,5	7789,6	475,9
Densidade volumétrica (Kg MS cm^{-1})	104,1	8,3	124,0	9,2
Folha (%)	43,4	8,2	25,3	7,9
Colmo (%)	38,2	6,3	44,8	9,8
Senescente (%)	18,4	3,5	29,9	14,8
Folha:colmo	1,1	0,1	0,6	0,1
Massa de folhas (kg MS ha^{-1})	4577,3	335,2	1970,8	147,7
Massa de colmos (kg MS ha^{-1})	4028,8	323,2	3489,7	281,5

A formulação dos concentrados experimentais e a composição química da forragem e dos concentrados são apresentados na Tabela 2. A adição de ureia foi complementar para que os concentrados fossem isoproteicos, o que confirmou-se após as análises químicas. A adição de gordura aumentou a energia liquida de lactação dos concentrados de 1,92 Mcal kg^{-1} para 2,05 Mcal kg^{-1}, e apesar das fontes das gorduras utilizadas serem diferentes em perfil de ácidos graxos, as composições químicas foram similares o que gerou mesma ELL por kg de suplemento concentrado fornecido. Além disso, a composição química da forragem indica que a quantidade de proteína bruta foi elevada, e a quantidade de FDN esteve dentro das expectativas e em geral a forragem apresentou boa qualidade.

Tabela 2 – Proporção dos ingredientes e composição química do extrato pastejado e dos concentrados experimentais

Ingredientes	Forragem	Concentrado		
		Controle	SCOS	SCOP
		% MS		
Milho		82,90	77,82	77,82
Farelo de soja		12,00	12,00	12,00
Bicarbonato de sódio		1,00	1,00	1,00
Gordura inerte		0,00	4,88	4,88
Ureia		0,10	0,30	0,30
Mineral		4,00	4,00	4,00
Total		100,00	100,00	100,00
Composição química				
MS (%)	19,8	88,8	89,4	89,3
PB (%)	18,3	14,5	14,4	14,4
EE (%)	2,8	3,7	7,2	7,2
FDN (%)	54,2	9,3	8,8	8,8
FDA (%)	37,5	3,4	3,2	3,2
Lignina (%)	3,2	0,4	0,4	0,4
Cinzas (%)	11,2	6,8	7,2	7,2
ELL (Mcal kg^{-1})[1]	1,47	1,92	2,05	2,05

[1] Estimado com os valores tabulares e equação do NRC (2001).

A formulação do concentrado, bem como a composição química da silagem e do concentrado utilizados durante o período residual são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Proporção dos ingredientes e composição química da silagem e do concentrado utilizados durante o período residual

	Silagem	Concentrado
Ingredientes		**% MS**
Milho		55,30
Farelo de soja		36,40
Ureia		2,30
Mineral		6,00
Total		100,00
Composição química		
MS (%)	33,7	88,8
PB (%)	8,4	31,0
EE (%)	2,6	2,8
FDN (%)	53,3	9,0
FDA (%)	25,1	4,0
Lignina (%)	3,4	0,4
Cinzas (%)	4,9	6,8
ELL (Mcal kg^{-1})	1,45	1,95

[1] Estimado com os valores tabulares e equação do NRC (2001).

A suplementação com gordura aumentou (P = 0,001) a produção de leite (Tabela 4). A suplementação com sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) aumentou a produção de leite quando comparado com o grupo controle (24,2 vs. 26,8 kg dia^{-1}), porém foi inferior a produção dos animais suplementados com sais de cálcio de óleo de palma (SCOP) com produção média de 29,0 kg dia^{-1}. Apesar do aumento em produção de leite a suplementação com SCOS reduziu drasticamente (P =0,001) o teor de gordura do leite quando comparado com o grupo controle (2,8 vs. 3,5%) e ao SCOP (3,3%). Esse fato não permitiu aumento em produção de leite corrigida para 3,5% de gordura entre os tratamentos SCOS e controle, no entanto, houve diferença para a produção corrigida entre o SCOP e ambos SCOS e controle (P = 0,002).

A queda em gordura do leite do tratamento com SCOS foi consistente já a partir do 6º dia experimental e contínuo até o final do período experimental (Figura 1). O teor de proteína foi reduzido por ambas às fontes de gordura quando comparado com o tratamento controle (P = 0,003). Não houve diferenças entre os

tratamentos para o teor de lactose (P= 0,78), N ureico no leite (P= 0,20) e contagem de células somáticas (CCS; P= 0,40). A maior produção de gordura foi observada nos animais recebendo SCOP (952,1 g dia^{-1}) comparada ao grupo controle (859,6 g dia^{-1}) e ao grupo recebendo SCOS que apresentou os menores valores (784,6 g dia^{-1}). A produção de proteína no leite não diferiu entre o tratamento controle e SCOS (P= 0,24), porém a maior produção de proteína foi observada no tratamento SCOP. A produção de lactose seguiu a mesma tendência da produção de leite sendo maior para o SCOP (1363,3 g dia^{-1}) quando comparado com SCOS (1210,2 g dia^{-1}) e ao grupo controle (1142,7 g dia^{-1}).

Tabela 4 – Produção e composição do leite de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP) durante o período de suplementação com gordura

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**P**
Produção de leite (kg dia^{-1})	24,2 c	26,8 b	29,0 a	0,52	0,001
PL corrigida para 3,5% de gordura	24,1b	24,1b	27,9 a	0,49	0,002
% de Gordura	3,5 a	2,8 b	3,3 a	0,08	0,001
% de proteína	3,3 a	3,1 b	3,1 b	0,05	0,003
% de lactose	4,6	4,4	4,6	0,06	0,78
Produção de gordura (g dia^{-1})	859,6 b	784,6 c	952,1 a	18,9	0,009
Produção de proteína (g dia^{-1})	798,4 b	829,6 b	894,9 a	17,56	0,003
Produção de lactose (g dia^{-1})	1142,7 c	1210,2 b	1363,3 a	15,6	0,008
N ureico (mg dl^{-1})	11,2	10,6	11,9	0,1	0,20
CCS (log)	2,0	2,1	2,3	0,08	0,40

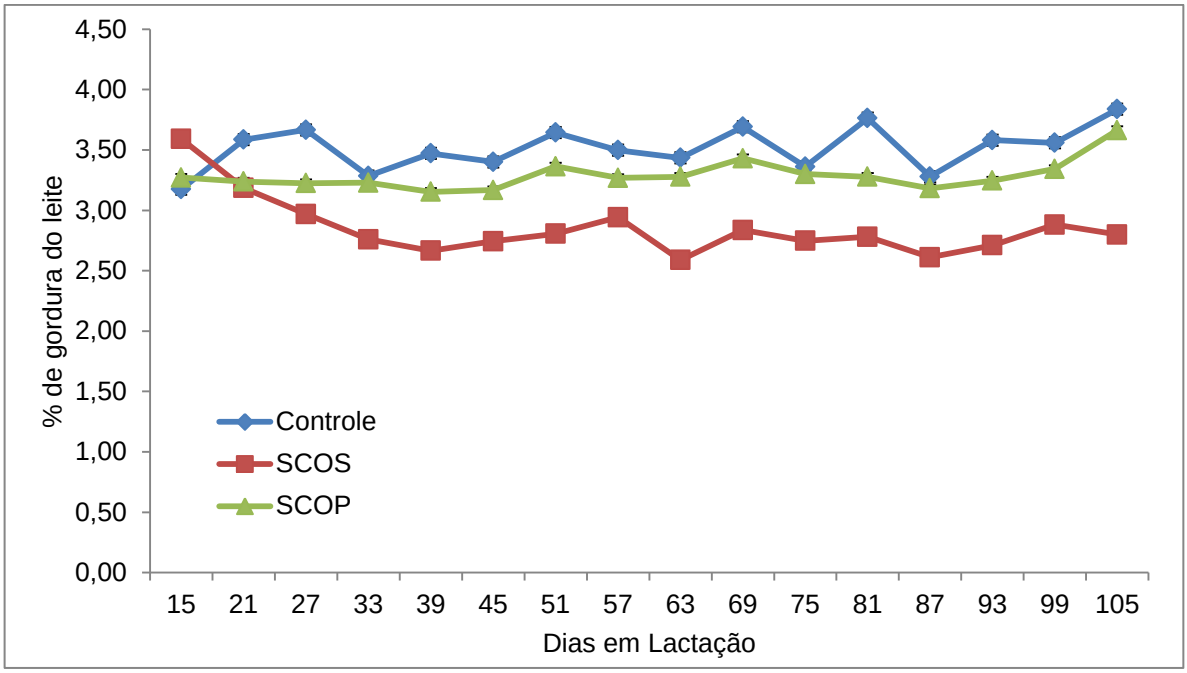

Figura 1 – Variação do conteúdo de gordura no leite de vacas suplementadas com diferentes fontes de gordura no terço inicial de lactação

A suplementação com SCOS deprimiu (P = 0,04) o consumo de matéria seca (CMS) (Tabela 5) quando comparado com o grupo controle (17,2 vs. 17,9 kg MS dia^{-1}) e com o SCOP (17,2 vs. 18,0 kg MS dia^{-1}). Esses resultados explicam em parte o melhor desempenho dos animais recebendo SCOP comparado com os SCOS. Não foi observada interação entre tratamento e período para nenhuma das variáveis relacionadas ao consumo e a digestibilidade (P > 0,05). Para o CMS houve efeito de período, o que era esperado em função da limitação de consumo logo no início de lactação e posterior aumento ao longo da lactação. Esse fato influenciou o consumo de nutrientes e, portanto, em todas as variáveis envolvendo consumo houve efeito de período. O consumo de matéria orgânica (CMO) seguiu a mesma tendência do CMS, sendo menor (P =0,04) para o SCOS quando comparado ao controle (15,4 kg vs. 16,2 kg MO dia^{-1}) e com o SCOP (15,4 vs. 16,7 kg MS dia^{-1}). Não houve diferença entre o grupo controle e o SCOP para o CMS e CMO (P > 0,05). O consumo de proteína bruta (CPB) não diferiu entre o controle e as fontes de gordura, porém tendeu a ser maior para o SCOP em comparação ao SCOS (P=0,07). De forma semelhante o consumo de FDN (CFDN) foi maior (P = 0,05) para o SCOP e controle comparado ao SCOS, enquanto não foram observadas diferenças entre o

SCOP e o controle. O consumo de extrato etéreo (CEE) como esperado foi maior para ambas as fontes de gordura comparado ao grupo controle (P = 0,001).

A digestibilidade aparente dos nutrientes também foi afetada pela adição de gordura, sendo que a digestibilidade da MS foi maior (p = 0,05) para o SCOP comparado ao SCOS (66,5 vs. 63,3%) e ao controle (66,5 vs. 62,3%) e não houve diferença entre o SCOS e o controle (63,3% vs. 62,3%). A mesma tendência (P = 0,09) foi observada para digestibilidade aparente da MO, em que a adição de SCOP aumentou a digestibilidade em comparação ao controle e ao SCOS. Não houve efeito da suplementação com gordura sobre a digestibilidade aparente da PB (P > 0,05) e houve aumento da digestibilidade aparente do EE para ambas as fontes de gordura comparado ao controle. A digestibilidade aparente da FDN não foi afetada pela adição de SCOP comparado ao controle, porém houve redução dessa variável com a suplementação com SCOS (P = 0,03). Esses resultados podem explicar a diferença em digestibilidade da MS e MO entre as duas fontes de gordura, e indicam que houve efeito deletério na digestibilidade da fração fibrosa com o SCOS.

Tabela 5 – Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP)

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**Trat.**	**Per.**	**Trat. X Per.**
CMS (kg)	17,9 a	17,2 b	18,0 a	0,42	0,04	0,03	0,45
DMS (%)	62,3 b	63,3 b	66,5 a	0,64	0,05	0,61	0,66
CMO (kg)	16,2 a	15,4 b	16,7 a	0,28	0,04	0,03	0,47
DMO (%)	64,2 b	65,2 b	68,2 a	1,28	0,09	0,61	0,87
CPB (kg)	3,0 ab	2,9 b	3,1 a	0,08	0,07	0,02	0,58
DPB (%)	64,4	65,5	65,8	1,21	0,15	0,44	0,67
CEE (kg)	0,59 b	0,83 a	0,85 a	0,04	0,001	0,02	0,50
DEE (%)	67,2 b	77,8 a	77,7 a	1,66	0,001	0,27	0,52
CFDN (kg)	6,3 a	5,7 b	6,5 a	0,23	0,05	0,03	0,47
DFDN (%)	52,4 a	47,7 b	54,5 a	1,93	0,03	0,19	0,58

CMS: Consumo de máteria seca; DMS: Digestibildade da matéria seca; CMO: consumo de matéria orgânica; DMO: Digestibilidade da matéria orgânica; CPB: consumo de proteína bruta; DPB digestibilidade da proteína bruta; CEE: consumo de extrato etéreo; DEE: Digestibilidade do extrato etéreo; CFDN: consumo de FDN; e DFDN: digestibilidade da FDN.

A avaliação do comportamento animal corroborou os resultados de consumo (Tabela 6). O tempo em pastejo foi maior para os tratamentos controle e SCOP (365 e 368 minutos, respectivamente) e menor para o tratamento com SCOS (337 minutos). O oposto ocorreu com o tempo em ócio, em que os animais recebendo SCOS (569 minutos) despenderam maior tempo nessa atividade que os animais do grupo controle (529 minutos) e do SCOP (540 minutos). Entretanto não foram observadas diferenças entre os tratamentos no tempo gasto em ruminação e outras atividades (P > 0,05) e o tempo referente ao consumo de concentrado foi fixo para todos os grupos.

Tabela 6 – Comportamento de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP)

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**P**
Ócio (min.)	529 b	569 a	540 b	10,4	0,05
Pastejo (min.)	365 a	337 b	368 a	5,6	0,02
Ruminação (min.)	276	300	298	20,7	0,14
Concentrado (min.)	30	30	30	-	-
Outros (min.)	240	204	204	14,6	0,12

O peso corporal e a variação de peso corporal foram influenciados pela adição de gordura (Tabela 7). O peso inicial (15 DEL) não diferiu (P >0,05) entre os tratamentos, o que foi esperado, pois apesar dos animais não terem sido blocados pelo peso corporal eles foram alocados por número de lactações e esperava-se que o peso fosse homogêneo. Não foram observadas diferenças entre tratamentos para o peso corporal aos 45 DEL (P > 0,05). Porém com 75 DEL o peso corporal foi maior (P = 0,05) para os animais recebendo SCOS comparado com os animais recebendo SCOP (483,6 vs. 467,8 kg) e com o controle (483,6 vs. 466,2 kg). Não foram observadas diferenças aos 75 DEL entre os tratamentos controle e SCOP (P > 0,05). Aos 105 DEL houve tendência (P=0,07) de o peso corporal ser maior para os animais recebendo SCOS comparado com os recebendo SCOP (491,1 vs. 470,6 kg) Esses resultados indicam maior mobilização de reservas corporais no tratamento SCOP comparados ao SCOS.

A variação do peso corporal durante os primeiros 30 dias experimentais (entre 15 e 45 DEL) tendeu (P= 0,07) a diferir entre os tratamentos com SCOS e SCOP, e entre o SCOS e o controle (P= 0,10). Com 75 DEL os animais do tratamento com SCOP ainda perderam peso (- 2,67 kg) e diferiram dos tratamentos controle e SCOS (P = 0,05). O tratamento com SCOS (+ 4,33 kg) permitiu maior ganho de peso entre os 45 e 75 DEL comparado com o controle (+ 0,91 kg). Ainda, não foram observadas diferenças entre tratamentos entre o 75 e 105 DEL para a variação do peso corporal, exceto por uma tendência (P=0,10) entre o controle e SCOP.

Tabela 7 – Peso corporal (kg) e variação de peso corporal de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP)

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**P**
DEL	**Peso corporal (kg)**				
15	486,5	493,3	496,2	25,2	0,43
45	465,3	479,3	470,5	17,9	0,21
75	466,2 b	483,6 a	467,8 b	12,4	0,05
105	480,4	491,1	470,6	14,1	0,14
	Variação de peso corporal (kg)				
15	0	0	0	-	-
15-45	-21,2	-14,0	-25,6	4,1	0,10
45-75	0,91 b	4,33 a	-2,67 c	0,3	0,05
75-105	14,20	7,43	2,8	5,3	0,18

O escorre de condição corporal (ECC) foi afetado pela adição de gordura na dieta (Tabela 8). Não houve diferença entre os tratamentos no ECC aos 15 DEL, porém houve tendência (P = 0,09) do ECC ser menor aos 45 DEL entre os animais do tratamento SCOP em comparação aos animais do tratamento SCOS. Aos 75 DEL o ECC foi maior (P = 0,03) para o tratamento com SCOS comparado ao SCOP (2,84 vs. 2,54), e o tratamento controle não diferiu de ambas as fontes de gordura. Aos 105 DEL o ECC tendeu (P=0,08) a diferir entre o SCOS e SCOP.

A variação do ECC seguiu a mesma tendência do ECC, sendo que a variação entre o 15 e 45 DEL não diferiu entre o controle e o SCOS, porém houve tendência

entre o SCOS e o SCOP (P= 0,08). De maneira análoga, a variação entre o 45 e 75 DEL foi significativa entre o SCOP e o SCOS (-0,07 vs. 0,08) e entre o SCOP e o controle (-0,07 vs. 0,04). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos em variação de ECC entre o 75 e 105 DEL.

Tabela 8 – Escorre de condição corporal (ECC) e variação de do escorre de condição corporal de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP)

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**P**
DEL		**ECC**			
15	3,00	2,97	3,00	0,15	0,98
45	2,71	2,75	2,61	0,11	0,19
75	2,75 ab	2,84 a	2,54 b	0,08	0,09
105	2,90	2,94	2,65	0,17	0,15
Variação de ECC					
15	0	0	0	-	-
15-45	-0,29	-0,22	-0,39	0,04	0,07
45-75	0,04 b	0,08 b	-0,07 a	0,003	0,05
75-105	0,15	0,10	0,11	0,09	0,15

A concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma foi influenciada pelos tratamentos (Tabela 9). Os AGNE seguiram a mesma tendência do peso corporal e do ECC e houve tendência de diferença aos 45 DEL entre os tratamentos SCOS e SCOP (P=0,09). Não foram observadas diferenças entre o controle e SCOS aos 45 DEL. Aos 75 DEL houve diferença (P = 0,04) na concentração plasmática de AGNE entre o SCOS e SCOP (0,23 vs. 0,35 mmol L^{-1}), e entre o SCOP e o controle (0,35 vs. 0,22 mmol L^{-1}), porém sem diferenças entre o controle e o SCOP. Não foram detectadas diferenças entre os tratamentos para a concentração de AGNE plasmática aos 105 DEL. A concentração de glicose plasmática e de N ureico no plasma não foram afetados pelos tratamentos em nenhum dos períodos avaliados.

Tabela 9 – Parâmetros sanguíneos de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP)

	Controle	SCOS	SCOP	EPM	P
DEL	**Glicose (mg dL^{-1})**				
45	42,4	45,2	44,6	5,3	0,51
75	56,2	63,3	67,4	7,2	0,44
105	66,7	67,8	69,4	2,6	0,69
	N ureico (mg dL^{-1})				
45	13,40	18,10	18,70	2,1	0,15
75	15,20	17,70	18,50	1,9	0,42
105	16,70	20,20	20,50	3,44	0,34
	AGNE (mmol l^{-1})				
45	0,18	0,15	0,23	0,05	0,15
75	0,22 b	0,23 b	0,35 a	0,04	0,04
105	0,21	0,19	0,26	0,07	0,43

A suplementação com SCOP aumentou (P = 0,02) o consumo de ELL (Mcal dia^{-1}) (29,2 Mcal dia^{-1}) em comparação ao SCOS (27,0 Mcal dia-^{1}) e ao controle (27,6 Mcal dia-^{1}). Não houve diferença no consumo de ELL entre o SCOS e o controle (Tabela 10). A energia secretada por kg de leite foi maior (P = 0,01) no controle (0,69 Mcal kg^{-1}) em comparação ao SCOP (0,66 Mcal kg^{-1}) e ao SCOS (0,62 Mcal kg^{-1}). Além disso, houve diferença entre o SCOS e o SCOP em relação a energia secretada por kg de leite. A ELL secretada diariamente no leite não diferiu entre o controle e o SCOS (16,8 vs. 16,4 Mcal dia^{-1}), porém ambas foram inferiores (P = 0,001) a secreção diária de ELL no leite dos animais recebendo SCOP (19,3 Mcal dia^{-1}). A eficiência de conversão da energia ingerida em leite foi maior (P = 0,001) para o SCOP (0,66) comparado ao SCOS (0,61) e ao controle (0,61).

Tabela 10 – Consumo de energia liquida de lactação (ELL), ELL secretada por kg de leite, ELL secretada no leite por dia e eficiência de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP)

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**Trat.**
Consumo de ELL (Mcal dia^{-1})	27,6 b	27,0 b	29,2 a	0,62	0,02
ELL secretada no leite (Mcal kg^{-1})	0,69 a	0,62 c	0,66 b	0,01	0,01
ELL secretada no leite (Mcal dia^{-1})	16,8 b	16,4 b	19,3 a	0,37	0,001
ELL leite/ELL consumida	0,61 b	0,61 b	0,66 a	0,02	0,001

O consumo de N, a excreção de N e a eficiência microbiana foram afetados pelos tratamentos experimentais (Tabela 11). Não houve interação entre tratamento e período para nenhuma das variáveis testadas. Houve efeito de período para todas as variáveis estudadas, menos para o N fezes e o N excretado. O consumo de N foi maior para o SCOP em comparação ao SCOS (496 vs. 468 g) e não houve diferença quando o grupo controle foi comparado com o SCOS e SCOP. O N secretado no leite foi maior para o tratamento com SCOP comparado ao controle (136,4 vs. 124 g) e ao SCOS (136,4 vs. 126 g). Assim, a eficiência de uso do N (EUN) foi maior para as fontes de gordura (26,9 e 27,5% para SCOS e SCOP, respectivamente) comparado ao controle (25,6%). O N excretado nas fezes não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$). A estimativa de N excretada na urina indicou que o grupo controle excretou maior quantidade de N na urina quando comparado com o SCOP (172 vs. 163g), e não houve diferença do SCOS tanto para o controle quanto para o SCOP. Dessa forma, a quantidade de N excretado total foi maior para o controle do que o SCOP (349 vs. 322g), e esses resultados corroboram a maior EUN observada no SCOP. Embora tenha havido efeito de período sobre a síntese de proteína microbiana (Pmic), não foram detectadas diferenças entre os tratamentos para essa variável. Quanto a eficiência microbiana por kg de NDT fornecido não foi observada diferença entre os tratamentos.

Tabela 11 – Consumo de N, eficiência do uso do N (EUN), excreção de N, síntese de proteína microbiana (Pmic) e eficiência microbiana de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP)

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**Trat.**	**Per.**	**Trat. X Período**
Consumo de N (g dia^{-1})	484 ab	468 b	496 a	13,1	0,07	0,03	0,45
N leite (g dia^{-1})	124 b	126 b	136,4 a	3,1	0,003	0,005	0,85
EUN (%)	25,6 b	26,9 a	27,5 a	0,39	0,11	0,01	0,45
N fezes (g dia^{-1})	177	161	159	9,1	0,29	0,46	0,45
N urina (g dia^{-1})	172 b	168 ab	163 a	3,1	0,07	0,03	0,45
N excretado (g dia^{-1})	349 b	329 ab	322 a	9,5	0,08	0,31	0,33
Sintese Pmic (g dia^{-1})	1583	1530	1635	99,6	0,82	0,02	0,65
Eficiência microbiana	12,7	12,5	13,0	0,44	0,22	0,04	0,76

Na tabela 12 é apresentado o perfil de ácidos graxos dos alimentos, forragem e fontes de gordura utilizada. Com relação ao capim-elefante, o acido graxo mais representativo foi o ácido linolênico (C18:3 cis-9 cis-12 cis-15). O milho e o farelo de soja apresentaram como ácido graxo principal o ácido linoleico (C18:2 cis-9 cis-12). Com relação às fontes de gordura, a fonte de SCOS apresentou como ácidos graxos principais os ácidos linoleico e palmítico (C16:0), enquanto que o SCOP apresentou em sua composição o ácido palmítico e o ácido oleico (C18:1 cis-9) como principais. Assim, o perfil de ácidos graxos esteve dentro do proposto, com a suplementação de duas fontes de gordura, uma composta pela maioria de ácidos graxos insaturados (SCOS) e outra por ácidos graxos saturados (SCOP).

Tabela 12 – Perfil de ácidos graxos dos alimentos e fontes de gordura utilizadas.

g/100g de gordura	**Capim elefante**	**Milho**	**Farelo de soja**	**SCOS**	**SCOP**
C4:0	-	0,02	-	-	-
C6:0	-	0,02	-	-	0,014
C8:0	-	0,02	-	-	0,033
C10:0	-	0,01	-	-	0,020
C12:0	0,35	0,11	0,04	0,98	0,195
C14:0	0,31	0,05	0,25	0,62	1,19
C16:0	18,7	-	20,2	16,8	47,57
C18:0	2,5	-	4,62	4,76	4,40
C18:1 cis-9	1,72	0,98	12,84	21,4	35,3
C18:1 cis-11	0,32	0,34	1,81	2,13	-
C18:1 cis-12	0,21	0,03	1,18	0,95	-
C18:1 trans-10	-	-	0,12	0,67	0,26
C18:1 trans-11	0,01	-	0,18	2,3	0,0195
C18:1 trans-12	-	-	0,07	0,85	-
C18:2 cis-9 cis-12	12,3	48,2	51,4	48,4	0,055
C20:0	0,21	1,27	0,26	0,02	0,330
C18:3 cis-9 cis-12 cis-15	53,8	-	6,43	3,2	0,254
C22:0	0,63	-	0,34	0,21	0,056

Com relação ao perfil de ácidos graxos do leite (Tabela 13), houve redução dos ácidos graxos de cadeia curta e média (C6:0, C8:0, C10:0, C12:0 e C14:0) com a suplementação com SCOS em comparação ao controle. Além disso, houve tendência da suplementação com SCOP também reduzir esses ácidos graxos quando comparado ao grupo controle. Não houve diferenças entre as fontes de gordura para esses ácidos graxos. Houve redução nos ácidos graxos de cadeia impar (C15:0 iso, C15:0 anteiso e C15:0) com a suplementação com SCOS em comparação ao controle e ao SCOP.

Tabela 13 – Perfil de ácidos graxos do leite, ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI) e índice dessaturase de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP) (continua)

g/100g de gordura	**Controle**	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**Trat.**	**Per.**	**Trat. X Per.**
C4:0	2,88	3,1	2,91	0,09	0,74	0,22	0,91
C6:0	1,84 a	1,55 b	1,67 b	0,06	0,007	0,49	0,81
C8:0	1,23 a	0,96 b	1,09 b	0,05	0,01	0,82	0,66
C10:0	2,39 a	1,64 c	2,02 b	0,13	0,003	0,86	0,12
C12:0	2,84 a	2,07 b	2,35 b	0,13	0,001	0,91	0,33
C14:0	10,3 a	8,2 b	8,9 b	0,31	0,0002	0,87	0,14
C15:0 iso	0,27 a	0,24 b	0,28 a	0,011	0,04	0,12	0,59
C15:0 anteiso	0,40 a	0,32 b	0,39 a	0,014	0,004	0,11	0,21
C14:1 cis-9	0,61 a	0,42 b	0,48 b	0,05	0,03	0,24	0,46
C15:0	0,84 a	0,70 b	0,76 ab	0,02	0,005	0,70	0,88
C16:0	29,5 b	29,3 b	32,9 a	1,11	0,02	0,31	0,63
C16:1 cis-9	1,07 a	0,89 b	0,99 a	0,02	0,05	0,44	0,67
C18:0	12,8 b	16,2 a	14,3 b	0,45	0,07	0,66	0,65
C18:1 trans-6, 7, 8 e 9	0,66 b	0,93 a	0,76 ab	0,06	0,09	0,98	0,71
C18:1 trans-10	0,52 b	0,66 a	0,50 b	0,03	0,001	0,68	0,19
C18:1 trans-11	0,91 b	1,16 a	1,01 b	0,03	0,001	0,23	0,16
C18:1 trans-12	0,46 b	0,62 a	0,48 b	0,02	0,004	0,72	0,84
C18:1 cis-9	20,8 b	24,3 a	23,2 a	0,65	0,004	0,95	0,62
C18:1 cis-11	1,86	2,03	1,88	0,12	0,18	0,77	0,35
C18:1 cis-12	0,80	0,88	0,83	0,04	0,32	0,32	0,22
C18:1 cis-13	0,46	0,50	0,46	0,01	0,36	0,23	0,28
C18:2 cis-9 cis-12	1,66 c	2,07 a	1,92 b	0,09	0,002	0,22	0,48
C20:0	0,12	0,13	0,13	0,07	0,39	0,61	0,51
C18:3 cis-9 cis-12 cis-15	0,33 b	0,43 a	0,39 a	0,02	0,07	0,26	0,32
CLA cis-9 trans-11	0,66 b	0,86 a	0,69 b	0,05	0,005	0,23	0,51

Tabela 13 – Perfil de ácidos graxos do leite, ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI) e índice dessaturase de vacas sem suplementação de gordura (controle) ou recebendo sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) ou sais de cálcio de óleo de palma (SCOP)

(conclusão)

g/100g de gordura	**Controle**	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**Trat.**	**Per.**	**Trat. X Per.**
CLA trans-10 cis-12	0,02 b	0,09 a	0,019 b	0,003	0,0001	0,47	0,56
C22:0	0,025	0,027	0,029	0,003	0,72	0,54	0,31
C20:4 n-6	0,11	0,12	0,11	0,01	0,43	0,56	0,98
C24:0	0,034	0,05	0,43	0,01	0,18	0,23	0,45
Soma <C16	25,6 a	20,8 b	21,4 b	0,99	0,005	0,41	0,44
Soma C16+C16:1	30,7 b	30,2 b	33,9 a	1,4	0,04	0,34	0,45
Soma > C16	43,7 b	49,0 a	44,7 b	2,2	0,04	0,56	0,69
Soma saturados	66,9 a	61,5 b	64,1 a	1,76	0,01	0,26	0,45
Soma de monoinsaturados	28,9 b	33,6 a	31,6 ab	1,3	0,04	0,34	0,48
soma de poliinsaturados	4,2 b	4,9 a	4,3 b	0,24	0,02	0,23	0,45
C14:1 cis-9/C14:0	0,057 a	0,048 b	0,057 a	0,009	0,01	0,45	0,54

A quantidade de acido palmítico (C16:0) aumentou com o fornecimento de SCOP em comparação ao controle e ao SCOS. Houve aumento do acido esteárico (C18:0) e dos ácidos graxos trans monoinsaturados (C18:1 trans-6, 7, 8 e 9, C18:1 trans 10, C18:1 trans 11 e C18:1 trans 12) no leite com o fornecimento de SCOS comparado ao controle e ao SCOP. Além disso, a concentração de ácido linoleico foi maior para o SCOS comparado ao controle e ao SCOP, e maior no SCOP comparado ao controle. Houve aumento de ácido linolênico em ambas as fontes de gordura. As concentrações de CLA (cis-9 trans-11 e trans-10 cis-12) no leite foram maiores para o SCOS em comparação aos demais tratamentos.

Houve diferença no somatório de ácidos graxos < C:16, em que ambas as fontes de gordura reduziram a participação desse grupo de ácidos graxos no leite. Em contrapartida a suplementação com SCOP aumentou os ácidos graxos C16:0 + C16:1 cis-9 no leite e o SCOS aumentou a quantidade de ácidos graxos > C16. O total de ácidos graxos saturados não diferiu entre o controle e o SCOP, porém foi

menor para o SCOS. A quantidade de ácidos graxos monoinsaturados foi maior para o SCOS em comparação ao controle, mas não houve diferença entre as fontes de gordura. A concentração de ácidos graxos poli-insaturados foi maior com SCOS comparado aos demais tratamentos. Além disso, o índice dessaturase (C14:1 cis-9/C14:0) reduziu com a suplementação de SCOS.

Após o período de suplementação de gordura os animais foram mantidos em dieta única e no mesmo manejo. A produção de leite foi influenciada pelo tratamento prévio, e continuou maior no tratamento com SCOP comparado ao SCOS (21,0 vs. 19,3 kg dia-1) e ao controle (21,0 vs. 18,4 kg dia-1) e não foram observadas diferenças entre o controle e SCOS (Tabela 14). Não houve diferença entre os tratamentos no tocante a composição de leite, em que o teor de gordura, proteína e lactose do leite bem como o N ureico e CCS não diferiram no período residual. Assim, as produções de gordura, proteína e lactose seguiram o mesmo padrão da produção de leite e foram maiores ao tratamento com SCOP comparado ao SCOS e controle.

Tabela 14 – Produção, composição do leite e produção dos componentes do leite de vacas no período residual de acordo com o tratamento prévio no início da lactação

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**P**
Produção de leite (kg dia^{-1})	18,4 b	19,3 b	21,0 a	0,34	0,001
PL corrigida para 3,5% de gordura	20,9 b	21,4 b	23,6 a	0,38	0,002
% de Gordura	4,2	4,2	4,2	0,07	0,24
% de proteína	3,7	3,5	3,5	0,05	0,45
% de lactose	4,4	4,4	4,4	0,04	0,69
Produção de gordura (g dia^{-1})	782,6 b	771,2 b	860,1 a	9,2	0,004
Produção de proteína (g dia^{-1})	679,2 b	670,5 b	725,3 a	8,8	0,002
Produção de lactose (g dia^{-1})	795,9 b	826,1 b	902,5 a	7,6	0,002
N ureico (mg dl^{-1})	8,9	8,5	9,1	0,14	0,34
CCS (log)	2,3	2,2	2,3	0,06	0,65

De forma geral, o benefício de suplementar gordura no início de lactação refletiu na produção ao longo de toda a lactação (Tabela 15). A produção de leite total na lactação (280 DEL) foi maior para o SCOP (7328 kg lactação^{-1}) comparado ao SCOS (6575 kg lactação^{-1}) e ao controle (6094 kg lactação^{-1}). A suplementação com SCOS também aumentou a produção total na lactação em quase 500 kg comparado com o controle. A curva de lactação evidencia a diferença em produção entre os tratamentos e o efeito residual ao longo da lactação (Figura 2). A produção de gordura foi reduzida no SCOS comparado com o controle (219,2 vs. 234,1 kg lactação^{-1}) e a maior produção de gordura foi observada no tratamento com SCOP (266,6 kg lactação^{-1}). As produções de proteína, lactose e sólidos totais não diferiram entre os tratamentos controle e SCOS, porém ambos foram menores que as produções desses componentes no tratamento SCOP.

Tabela 15 – Produção e produção dos componentes do leite em toda a lactação de vacas suplementadas com fontes de gordura no inicio da lactação

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**P**
Produção de leite na lactação (kg)	6094 c	6575 b	7328 a	28,8	0,001
Produção de gordura (kg)	234,1 b	219,2 c	266,6 a	5,2	0,001
Produção de proteína (kg)	212,1 b	213,5 b	232,6 a	7,8	0,01
Produção de lactose (kg)	274,9 b	290,1 b	326,2 a	8,6	0,03
Produção de sólidos totais (kg)	779,4 b	784,3 b	894,9 a	18,4	0,001

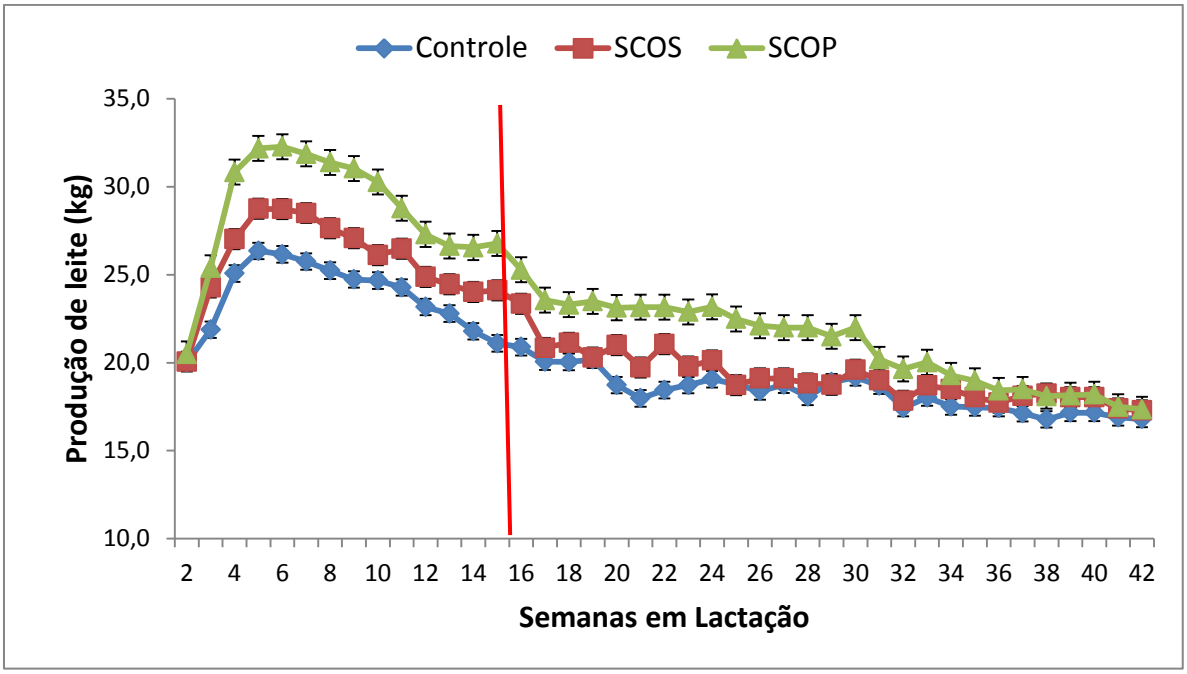

Figura 2 – Curva de produção de leite de vacas suplementadas com diferentes fontes de gordura no terço inicial de lactação

O ECC não diferiu no período residual, e todos os tratamentos apresentaram o mesmo padrão de resposta ao longo da lactação (Figura 3).

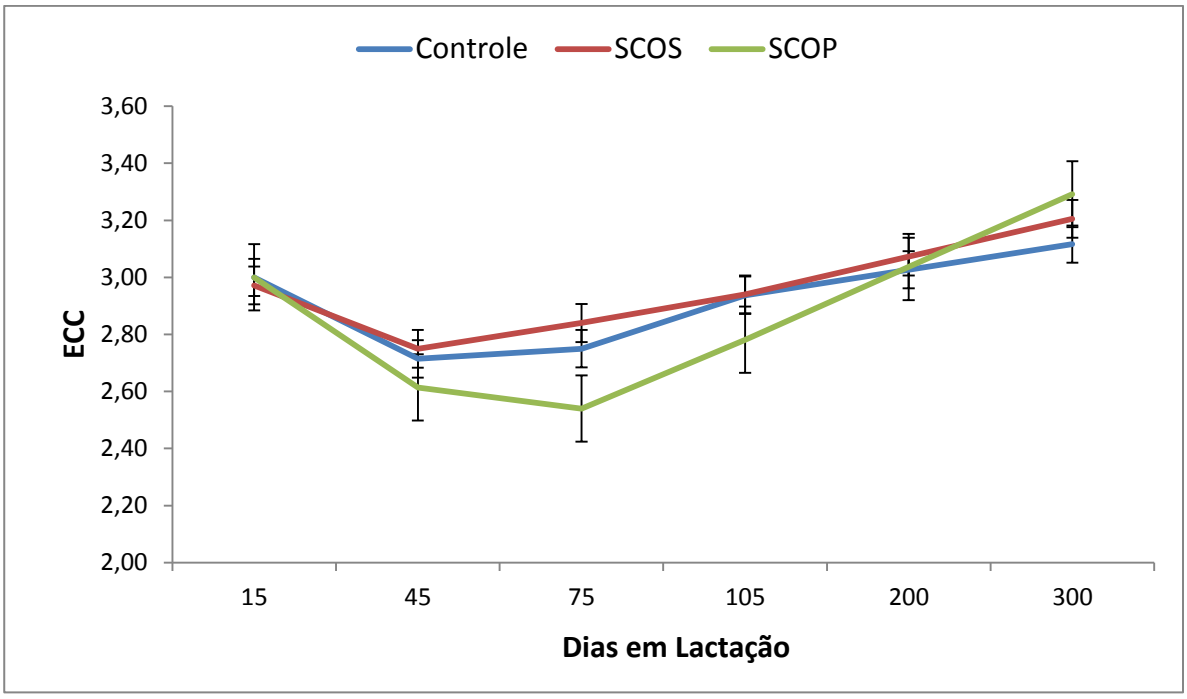

Figura 3 – Variação do escorre de condição corporal de vacas suplementadas com diferentes fontes de gordura no terço inicial de lactação

O consumo de MS total não diferiu no período residual de acordo com o tratamento experimental prévio (Tabela 16). O consumo de concentrado foi fixado de acordo com a produção de leite de leite de cada bloco. Do mesmo modo as digestibilidade da MS e MO também não foram influenciadas pelos tratamentos.

Tabela 16 – Consumo de matéria seca total e digestibilidade de vacas no período residual de acordo com o tratamento prévio no início da lactação

	Controle	**SCOS**	**SCOP**	**EPM**	**Trat.**
Consumo total (kg/MS)	19,6	19,2	19,9	1,1	0,28
Digestibilidade aparente da MS (%)	60,2	61,1	60,8	1,4	0,26
Digestibilidade aparente da MO (%)	57,3	57,8	57,4	1,6	0,24

5.4 Discussão

Para o manejo do capim elefante cv. Cameroon a altura média de entrada ficou próxima (101,4 cm) ao valor preconizado de 103 cm, correspondente à 95% de IL (VOLTOLINI et al., 2010). No trabalho de Voltolini et al. (2010) a produção de leite, 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 manejados com intervalos fixos de desfolha de 27 dias correspondendo a altura de 120 cm de altura.

Os animais experimentais rebaixaram o dossel na média até 62,8 cm, sendo então outro grupo de menor exigência utilizado para o pastejo até a altura preconizada de saída. Esse manejo possibilitou ao grupo experimental ter acesso ao dossel com grande quantidade de folhas com bom valor nutritivo. De acordo com Fonseca et al. (2012) se o objetivo é maximizar o consumo de forragem, os animais devem consumir no máximo 40% da altura de entrada, ponto a partir do qual a estrutura da planta se altera e pode prejudicar a taxa de ingestão. Logo, o manejo aplicado durante o experimento visou otimizar o consumo de forragem pelos animais.

No pré-pastejo a maior proporção do dossel foi composta por folhas sendo em média 43,2%. 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 54,4% de folhas na massa de

forragem (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 extrato pastejável não teve grandes alterações. Esse fato se deve a maior massa de forragem observada nesse trabalho em comparação com o de Voltolini et al. (2010) e Carareto (2007), o que provavelmente está atrelado ao fato do manejo pré-experimental dos piquetes utilizados, que não foram roçados previamente, e o resíduo continha maior proporção de colmos e material senescente.

Houve oferta de folhas de 4577,3 kg MS ha^{-1} no pré-pastejo. Considerando a área do piquete de 2000m², a ocupação média de 1 dia e os 32 animais experimentais (27 animais desse experimento e 5 animais do experimento metabólico), a oferta de folhas diária foi de 28 kg MS $animal^{-1}$. A oferta de forragem é um importante fator que afeta o desempenho de animais em pastejo e tem sido sugeridos valores 2 a 3 vezes superior ao consumo para maximizar o desempenho animal (HODGSON, 1990). Nesse trabalho a oferta de folhas esteve dentro desse intervalo, visto que o consumo médio de forragem foi próximo a 10 kg MS dia^{-1} e, portanto o manejo do pastejo assegurou boa oferta de forragem com boa qualidade favorecendo o consumo.

Houve desaparecimento médio de 2755,1 kg MS ha^{-1} e de 2606,5 kg MS ha^{-1} da massa de forragem e folhas, respectivamente. A massa de folhas que desapareceu foi equivalente a 16,3 kg MS animal dia^{-1}. O desaparecimento de forragem engloba o consumo de forragem e as perdas inerentes ao processo de pastejo, sejam por pisoteio ou deposição de fezes. Assim, os valores encontrados indicam que não houve limitação na oferta de forragem aos animais.

A composição química do extrato pastejado apresentou boa qualidade nutricional alta quantidade de proteína bruta (18,3%) e com baixo teor de FDN (54,2%) para plantas tropicais, porém alto suficiente para limitar o valor energético da forragem (1,47 Mcal/kg de ELL). Esses valores de composição química refletem a alta adubação nitrogenada realizada a cada ciclo de pastejo e estão de acordo com resultados prévios na mesma área (DANÉS, 2010; CHAGAS, 2011; MACEDO, 2012).

Dentre a composição do concentrado, a análise dos sais de cálcio indicou, para ambas as fontes, menor conteúdo de lipídios (78%) e maior quantidade de fração mineral (22%) quando comparado aos valores de 85% de lipídios e 15% de

minerais citados pelo NRC (2001). Esse fato se deve provavelmente ao processo industrial de fabricação dos sais de cálcio no Brasil ser diferente do adotado nos Estados Unidos. Apesar das fontes de gordura serem diferentes em seu perfil de ácidos graxos, a composição bromatológica foi semelhante, o que permitiu o mesmo teor de ELL nos concentrados com adição de gordura.

A produção de leite respondeu positivamente a suplementação com gordura sendo que em média a produção no período de suplementação aumentou em 15,3% (3,7 kg de leite dia^{-1}) com o fornecimento de gordura. A maior resposta foi utilizando os sais de cálcio de óleo de palma (SCOP) que aumentou a produção em 8,2% (2,2 kg de leite dia^{-1}) em comparação aos sais de cálcio de óleo de soja (SCOS) e em 19,8% (4,8 kg de leite dia^{-1}) em comparação ao controle. Os SCOS aumentaram a produção de leite em 10,7% (2,6 kg de leite dia^{-1}) quando comparado ao controle. Em meta-análise recente, Rabiee et al. (2012) usando dados de animais confinados recebendo dieta total (TMR) e suplementadas com diferentes fontes de gordura, relataram que a produção de leite foi positivamente influenciada pela adição de gordura e de maneira geral houve um acréscimo de 1,05 kg de leite dia^{-1} (considerando todas as fontes de gordura) e um aumento de 1,55 kg de leite dia^{-1} quando se considerou apenas a suplementação com SCOP. Além disso, para animais mantidos em pastagens de clima temperado, em revisão de Schoroeder et al. (2004) houve um acréscimo médio de 6,5% na produção de leite (1,4 kg de leite dia^{-1}) quando da suplementação com gordura.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam superioridade na suplementação com gordura em animais mantidos em pastagens tropicais comparada com animais em confinamento ou mantidos em pastagens temperadas. Com pastagens tropicais, Vilela et al. (2002) suplementaram vacas em início de lactação com dose diária de 700g de SCOP por 90 dias no início da lactação e relataram um acréscimo de 2,9 kg de leite dia^{-1} no período de suplementação com gordura. Esses resultados corroboram os obtidos nesse trabalho e indicam que vacas em início de lactação mantidas em pastagens tropicais respondem a suplementação com gordura em magnitude maior do que os resultados com plantas temperadas e animais em confinamento. Isso provavelmente se deve ao fato que plantas tropicais bem manejadas possuem teores adequados de proteína (CHAGAS, 2011; DANÉS et al., 2013), mas o elevado teor de FDN pode impor limitações ao consumo de energia.

Além disso, vacas no início de lactação apresentam um desequilíbrio entre as necessidades dietéticas e o consumo de nutrientes, fazendo com que as necessidades energéticas e proteicas sejam parcialmente supridas pela mobilização de reservas corporais (INGVARTSEN; ANDERSEN, 2000). Animais mantidos a pasto podem ter um balanço negativo mais acentuado em função das limitações impostas ao consumo de nutrientes, visto que as plantas tropicais tendem a apresentar teor elevado de fibra e pelos fatores não nutricionais relacionados ao desafio imposto a colheita do pasto pelos animais (POPPI et al., 1987). Dessa forma, a magnitude maior de resposta em produção de leite observada em vacas mantidas em pastagens tropicais recebendo gordura devem-se as maiores limitações energéticas que esses animais estão expostos.

O teor de gordura do leite do tratamento com SCOS foi drasticamente reduzido em 20% em comparação com o controle e em 15,1% quando comparado com os SCOP. Ainda, a produção de gordura foi reduzida pelo SCOS em 8,8% e 17,6% quando comparado com o controle e SCOP, respectivamente. A depressão de gordura do leite é observada em diversas condições dietéticas, incluindo a suplementação com lipídios insaturados (GRIINARI et al., 1998), e é causada pela mudança nas rotas de bio-hidrogenação de ácidos graxos no rúmen levando a formação de isômeros *trans* e passagem desses isômeros até a glândula mamária, onde esses reduzem a capacidade lipogênica e transcrição de genes de enzimas lipogênicas responsáveis pela síntese *de novo* de ácidos graxos (BAUMAN et al., 2011).

No entanto, não era esperada essa magnitude de depressão na gordura do leite em função da suplementação do óleo de soja na forma de sais de cálcio. O propósito da proteção na forma de sais de cálcio é justamente minimizar os efeitos negativos da suplementação lipídica no ambiente ruminal, de modo que a gordura passe de forma “inerte” pelo rúmen e a ligação com o cálcio se dissocie no abomaso (em pH baixo) e os ácidos graxos são então absorvidos no intestino (JENKINS; PALMQUIST, 1984). No entanto, a proteção dos sais de cálcio não é 100% efetiva e de acordo com estudo de Sukija e Palmquist (1990) quanto menor for o pH ruminal e maior o grau de instauração dos lipídios, maior é a dissociação dos sais de cálcio no rúmen. Nesse trabalho os autores concluíram que a dissociação de ácidos graxos insaturados é alta, independente do pH. Levando em consideração os dados de pH ruminal obtido dos animais do experimento de metabolismo (Capítulo 5), o pH

ruminal não reduziu abaixo de 6,0, o que de acordo com os achados de Sukhija e Palmquist (1990) sugerem dissociação dos SCOS em torno de 55%. Entretanto, em função da drástica redução no teor e produção de gordura do leite do SCOS pode-se inferir que a proteção pode ter sido menos efetiva ainda e que grande parte do SCOS se dissociou no rúmen.

Em função do decréscimo em gordura do leite pelo tratamento com SCOS, quando foi calculada a produção de leite corrigida para 3,5% não foram detectadas diferenças em produção entre o SCOS e o controle, porém ambos foram inferiores a produção do SCOP. Esses resultados corroboram os encontrados na revisão de Schoroeder et al. (2004) que indicaram aumento na produção corrigida para gordura em 1,6 kg de leite dia^{-1} quando da suplementação com fontes saturadas de gordura e não houve diferença em produção de leite corrigida para gordura quando fontes insaturadas foram fornecidas.

Houve redução do conteúdo de proteína do leite em 6,1% quando ambas as fontes de gordura foram fornecidas em comparação ao controle. Essa resposta é comumente encontrada em experimentos com suplementação de gordura e não é completamente entendida (ONETTI; GRUMMER, 2004). Várias teorias foram propostas para explicar esse fenômeno incluindo a redução da glicose em função da suplementação com gordura, e aumento da resistência à insulina pelos tecidos (WU; HUBER, 1994). De Peters e Cant (1992) propuseram que o aumento da eficiência de utilização da energia poderia explicar a redução na concentração de proteína, em função de que durante a suplementação com gordura há aumento da incorporação de ácidos graxos da dieta na gordura do leite, o que leva a uma redução na síntese *de novo* de ácidos graxos, e subsequente redução da exigência de acetato pela glândula, que poderia ser usado como fonte de energia economizando glicose para a síntese de lactose e concomitante de leite. Isso faria com que houvesse um efeito de diluição da proteína do leite. Como o volume de leite produzido aumentou em ambos os tratamentos com gordura, é provável que o efeito de diluição foi a causa da redução da proteína do leite, visto que as dietas foram isoproteicas e não houve efeito negativo da suplementação com gordura sobre a síntese de proteína microbiana.

A produção de proteína no leite não diferiu entre o SCOS e o controle, e ambos foram inferiores ao SCOP. Esses resultados se devem principalmente ao efeito da produção de leite e da queda no teor de proteína nos tratamentos com

gordura. A concentração de lactose no leite não foi alterada pelos tratamentos, e a produção de lactose seguiu a mesma tendência da produção de leite. O conteúdo de N ureico não diferiu entre os tratamentos e ficou abaixo de 12 mg dL^{-1} valor inferior a 15 mg dL^{-1} considerado como o ponto a partir do qual indica menor eficiência do uso do nitrogênio (REIS; DANES, 2011).

O consumo de matéria seca (CMS) não foi influenciado pela adição de SCOP, porém houve redução do consumo com a adição de SCOS. A resposta clássica com suplementação lipídica é a redução do consumo, e a revisão de Onetti e Grummer (2004) indicou uma redução média de 0,97 kg CMS dia^{-1} com a adição de SCOP na dieta de vacas em confinamento. De maneira semelhante a meta-análise de Rabiee et al. (2012) indicou redução em consumo de 0,64 kg CMS dia^{-1} com a adição de SCOP na dieta. No entanto, na revisão de Schoroeder et al. (2004) a suplementação com gordura para animais a pasto não reduziu o CMS, e discutiram em função da maioria do banco de dados utilizado na revisão ser composto por trabalhos com suplementação de gordura provenientes de fontes saturadas. Com base no exposto, em condições de pastagem e mesmo com animais em confinamento (LOCK et al., 2013) não há unanimidade quanto a depressão de consumo suplementando fontes saturadas. Em função da alta demanda energética dos animais no início de lactação, o aumento em produção de leite em função da suplementação com SCOP e ausência de efeitos negativos sobre a digestibilidade, esses fatores permitiram que o CMS de animais recebendo SCOP não fosse afetado nesse estudo.

Em contrapartida, a adição de fontes insaturadas geralmente deprime o CMS (ALLEN, 2000). Inicialmente, esses resultados eram atribuídos principalmente aos seus efeitos negativos sobre a fermentação ruminal (JENKINS, 1993). Entretanto, no trabalho de Harvatine e Allen (2006) suplementando diferentes fontes protegidas de gordura, a fonte insaturada deprimiu o consumo enquanto esse efeito não foi observado na fonte saturada. Esses autores então propuseram que as fontes insaturadas poderiam exercer algum efeito pós-ruminal no controle do consumo. Posteriormente, estudos indicaram que lipídios insaturados estimularam a liberação de colecistoquinina (CCK) e do GLP -1, dois potentes reguladores da saciedade e tendeu a reduzir a liberação de grelina, hormônio produzido pelo abomaso e que estimula o consumo, quando comparados com o fornecimento de gordura saturada (RELLING; REYNOLDS, 2007; BRADFORD et al., 2008). Assim, a inibição do consumo de animais recebendo fontes insaturadas de lipídios é uma ação

coordenada de efeitos ruminais e pós-ruminais. Dessa forma, a diferença observada no presente estudo no CMS entre animais recebendo SCOS e SCOP, explica-se pelas diferenças no ambiente ruminal e metabolismo pós-ruminal que ambas as fontes exercem.

O consumo de matéria orgânica (CMO) e o consumo de FDN (CFDN) seguiram a mesma tendência do CMS. O consumo de extrato etéreo foi maior para as fontes de gordura em comparação ao controle, fato esse esperado em função do maior teor de extrato etéreo nos concentrados com gordura.

A digestibilidade aparente da MS e da MO foram maiores para o SCOP em relação ao controle. Na literatura, geralmente a adição de gordura não altera a digestibilidade aparente dos nutrientes, em função do nível de inclusão na dieta ser baixo (WEISS et al., 2011). No entanto, no presente trabalho houve aumento da digestibilidade, o que em parte pode estar relacionado ao fato da fonte de SCOP não afetar negativamente a digestibilidade da FDN e aumentar a digestibilidade do extrato etéreo. A digestibilidade do EE foi maior para as dietas com adição de gordura e não houve diferença entre as fontes de gordura. Em geral, a digestibilidade dos lipídios é maior com fontes insaturadas do que saturadas (WEISS; WYANT, 2004). No entanto, baseado nos resultados de gordura do leite pode-se inferir que grande parte dos SCOS se dissociou no rúmen, e então o perfil de ácidos graxos que alcançou o intestino foi modificado pela flora microbiana e provavelmente em função disso não foram observadas diferenças em digestibilidade entre as fontes testadas.

As digestibilidades da MS e MO foram maiores para o SCOP em comparação ao SCOS. Embora os suplementos lipídicos raramente influenciem na digestibilidade dessas frações (WEISS et al., 2011), quando ocorre diferenças na digestibilidade da fração da FDN, as digestibilidades da MS e MO podem ser afetadas (SIMAS et al., 1998). Foi o que ocorreu no presente estudo, visto que a digestibilidade do FDN foi afetada negativamente pela adição de SCOS. Vários mecanismos foram propostos para explicar os efeitos tóxicos dos lipídios sobre o metabolismo microbiano, incluindo o recobrimento de partículas, modificação da população ruminal e redução da disponibilidade de cálcio necessário aos microrganismos. Dentre os mecanismos, o recobrimento de partículas dificultando à aderência microbiana as partículas de alimento e efeito tóxico direto por alterar a função da membrana plasmática microbiana são as hipóteses mais aceitas para a redução da digestão da fibra em

função da suplementação com lipídios insaturados (JENKINS, 1993). Em nosso estudo, a redução da digestibilidade da fibra foi em função da provável alta dissociação dos SCOS no rúmen e então pelos efeitos negativos dos lipídios insaturados sobre os microrganismos celulolíticos.

Os resultados do comportamento animal seguiram a mesma tendência do consumo. O tempo em pastejo foi menor para o tratamento com SCOS e isso corroborou com os resultados de consumo, tendo-se registrado os picos de consumo na parte da manhã e a noite. 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. Essas diferenças podem ser atribuídas ao horário de ordenha, e ao nível e ao tipo de suplemento fornecido. No entanto, de acordo com Poppi et al. (1987) os animais apresentam capacidade de alterar seus horários de pastejo e ajustar o consumo ao longo do dia.

Os dados de escorre de condição corporal e variação do peso corporal indicam que houve diferença na mobilização de reservas corporais ao longo do experimento, o que era esperado visto que os animais iniciaram o experimento com média de 15 dias em lactação e nesse período as exigências nutricionais são maiores que a capacidade de ingestão de alimento (NRC, 2001). O NRC (2001) assume como variação do peso corporal o valor de 13,7% do peso para cada unidade de decréscimo no ECC (escala de 1-5). Tomando como base a variação de ECC e a variação de peso do presente experimento, os valores encontram-se próximos aos preditos pela equação do NRC (2001). Nos primeiros 30 dias de experimento (15 ao 45 DEL) houve tendência dos animais do tratamento com SCOS perderem menos peso e ECC comparado ao tratamento SCOP. Aos 75 DEL os animais do SCOP ainda perderam peso enquanto os outros começaram a recuperá-lo. Entre os 75 aos 105 DEL os animais começaram a recuperar peso e condição corporal, influenciados pelo aumento do consumo e redução da exigência para produção de leite. Em suma, no período total (dos 15 aos 105 DEL), os animais do controle perderam 0,10 de ECC e 6,1 kg de peso corporal, enquanto que do tratamento com SCOS perderam apenas 0,03 de ECC e 2,2 kg de peso e o tratamento com SCOP perderam 0,35 de ECC e 25,6 kg de peso corporal.

A maior mobilização de reservas corporais entre o controle e o SCOP pode explicar em parte o aumento expressivo em produção de leite. Os resultados de

peso e condição corporal indicam que houve diferença na partição de energia entre as fontes de gordura. Com a suplementação de fontes saturadas e insaturadas para vacas em meio de lactação, Harvatine e Allen (2006) observaram que o acréscimo de gordura insaturada aumentou o ganho de peso comparado ao controle e a fonte saturada. Esses autores também observaram depressão da gordura do leite com a fonte de gordura insaturada e atribuíram que a energia que não foi secretada no leite foi direcionada ao tecido adiposo e armazenado como reserva. A depressão de gordura do leite causada pela passagem de intermediários da bio-hidrogenação ruminal reduz a síntese *de novo* de ácidos graxos na glândula mamária aumentando a disponibilidade de acetato que pode ser direcionado para a deposição de lipídios (HARVATINE; ALLEN, 2006). Esses resultados podem explicar por que no presente experimento o SCOS permitiu menor perda de peso, assumindo que a depressão de gordura do leite foi causada pela dissociação dos SCOS e houve passagem de isômeros que deprimiram a síntese *de novo* e aumentaram a disponibilidade de acetato, que em função do estádio de lactação dos animais não foi convertido em reserva, mas foi utilizado pelos tecidos para oxidação e produção de energia, reduzindo a necessidade de mobilização de reservas corporais.

Quanto as variáveis sanguíneas, tanto a glicose quanto o N ureico do leite não foram afetados pelos tratamentos experimentais. A quantidade de ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi afetada, sendo que houve maior concentração de AGNE aos 75 DEL no tratamento com SCOP. 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 (KAY et al., 2007). Portanto, esses resultados corroboram os previamente encontrados com o peso e ECC, indicando maior mobilização de reservas no tratamento com SCOP.

O consumo de energia liquida de lactação não diferiu entre o controle e o SCOS. O NDT calculado (64,1 vs. 62,9%) e a ELL (1,57 vs. 1,54 Mcal kg^{-1}) da dieta foram maiores para o tratamento com SCOS comparado ao controle. O SCOS reduziu a digestibilidade da FDN, mas aumentou a digestibilidade do EE, o que resultou em aumento da energia da dieta. Apesar de o SCOS aumentar a concentração energética do concentrado, nesse tratamento houve redução do consumo de forragem, o que não permitiu aumento no consumo de energia. O maior

consumo de ELL ocorreu no SCOP sendo observado um aumento de 5,8% (1,6 Mcal dia^{-1}) em comparação ao controle e de 8,1 (2,2 ao Mcal dia^{-1}) em comparação ao SCOS. O consumo de ELL aumenta em relação à suplementação lipídica quando não há ou quando o decréscimo em consumo seja mínimo (WEISS et al., 2011), o que explica o aumento no presente estudo, visto que a densidade energética da dieta aumentou sem decréscimo no consumo no tratamento com SCOP. A menor ELL secretada por kg de leite foi observada no tratamento com SCOS, o que se deve ao fato de nesse tratamento apresentar baixo teor de gordura e proteína no leite. O SCOP também apresentou menor ELL por kg de leite em comparação ao controle, o que se deve ao fato de apresentar teor de gordura um pouco inferior (não estatisticamente diferente) e menor teor de proteína. A eficiência de uso da ELL consumida para a síntese de leite foi maior para o SCOP em comparação ao controle e ao SCOS. Em geral, a suplementação com gordura melhora a eficiência de uso da energia para a síntese de leite (ONETTI; GRUMMER, 2004), fato que foi observado no SCOP, e provavelmente a eficiência foi menor para o SCOS em função de parte da energia ter sido direcionada para outros fins metabólicos, o que permitiu menor perda de peso corporal.

A ELL diária secretada no leite foi maior para o SCOP em comparação ao controle e ao SCOS. Essas diferenças são atribuídas a maior produção de leite do SCOP em comparação ao SCOS (+ 2,2 kg dia^{-1}) e ao controle (+ 4,8 kg dia^{-1}). Com relação à diferença entre o SCOP e SCOS, houve um consumo diário de ELL de 2,2 Mcal dia^{-1} maior para o SCOP, e considerando a diferença de ELL secretada por dia de leite entre esses tratamentos (2,9 Mcal dia^{-1}), o consumo adicional de ELL explica 76% da diferença, e o restante justifica-se pela diferença em mobilização de reservas corporais. Com relação a diferença em produção de leite entre o tratamento com SCOP e o controle, o consumo de ELL explica parte da diferença, visto que o SCOP permitiu um consumo maior de ELL em média de 1,6 Mcal dia^{-1}. A diferença entre o controle e SCOP em secreção de ELL diária no leite foi de 2,5 Mcal dia^{-1}. Considerando a diferença de perda de peso corporal entre o controle e o SCOP (-6,1 vs. -25,6 kg) durante os 90 dias, e assumindo o valor de 5,47 Mcal kg^{-1} de perda de peso (para um ECC variando de 3,0 a 2,5) proposto pelo NRC (2001), a diferença entre os tratamentos em peso corporal de 19,5 kg x 5,47 Mcal kg^{-1} totaliza uma diferença de 106,6 Mcal provenientes de reserva que foram consumidas no período, ou na média de 1,18 Mcal dia^{-1}. Assim, a diferença entre o controle e o SCOP em

produção de leite (4,8 kg) foi explicada por um adicional de 2,5 Mcal dia^{-1} de ELL secretada no leite, composta em parte pelo maior consumo de ELL (+ 1,6 Mcal dia^{-1}) e em parte da maior mobilização de reservas corporais (+ 1,18 Mcal dia^{-1}).

O consumo de N apresentou a mesma tendência do consumo de proteína bruta, sendo maior para o SCOP em comparação ao SCOS. O N secretado no leite não diferiu entre o controle e o SCOS, mas foi maior para o SCOP em função da maior produção de proteína no leite. A eficiência de uso do N (EUN) foi maior para ambas as fontes de gordura em comparação ao controle. A maior eficiência do SCOP em comparação ao controle se deve a maior produção de proteína do leite, obtidas com o mesmo CMS entre os tratamentos. A maior EUN do SCOS em comparação ao controle se deve ao fato de apesar da produção de proteína no leite não ter diferido entre esses tratamentos, o CMS foi menor para o SCOS em comparação ao controle, o que eleva a EUN. Como consequência da menor EUN pelo controle, nesse tratamento houve maior excreção de N nas fezes e urina comparado com ambas às fontes de gordura. Apesar de o SCOS reduzir a digestibilidade da fibra, não houve efeito dos tratamentos sobre a síntese de proteína microbiana e eficiência microbiana. Usando o NRC (2001) a Pmic estimada pelas dietas foi de 1593, 1572 e 1635 g dia^{-1} para os tratamentos controle, SCOS e SCOP, respectivamente. No entanto, a estimativa de síntese microbiana pelo NRC apresenta uma limitação, visto que o calculo é feito com 13% do consumo de NDT, e a suplementação com gordura aumenta o NDT da dieta, e, portanto aumenta a estimativa de síntese microbiana, porém lipídios não são utilizados por microrganismos ruminais como fonte de energia para seu crescimento, logo a suplementação com gordura leva a uma superestimativa da síntese microbiana pelo NRC.

O principal ácido graxo da forragem foi o acido linolênico. 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, e a grande participação do acido linolênico (GLASSER et al., 2013). Com relação às fontes de gordura, o resultado do perfil de ácidos graxos confirmou nosso objetivo de fornecer duas fontes de gordura com perfil distinto de lipídios.

O fornecimento de SCOS alterou o perfil lipídico com redução dos ácidos graxos de cadeia curta e média e aumento dos ácidos graxos de cadeia longa. Além disso, houve um acréscimo de 27,5% na concentração de CLA (cis-9 trans-11) e aumento de 4 vezes na concentração de CLA (trans-10 cis-12) quando da suplementação com SCOS em comparação ao controle. Esses resultados corroboram nossa hipótese da alta dissociação dos SCOS no rúmen. Altas concentrações de ácidos graxos livres insaturados e poli-insaturados no ambiente ruminal podem resultar em um processo incompleto de bio-hidrogenação, sendo que o produto final passa a ser um de seus intermediários, como CLA (cis-9 trans-11) e o ácido vaccênico (C18:1 trans-11), acumulando-os no rúmen. Além disso, a redução do pH ruminal, associado à alta concentração de ácidos graxos insaturados, levam a formação de intermediários trans-10 ao invés de trans-11 (JENKINS et al., 2008; CHILLIARD et al., 2007). Alguns ácidos graxos trans, intermediários da bio-hidrogenação, que seguem adiante no trato gastrintestinal 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., 2002). A ação do CLA trans-10 cis-12 que resultam na queda da gordura, ocorre em função de uma diminuição da expressão de enzimas lipogênicas importantes como a Acetil-CoA Carboxilase (ACC), Ácido Graxo Sintetase (AGS), Estearoil-CoA Dessaturase (ECD) e Lipoproteína Lipase (LPL) (PIPEROVA et al., 2000; BAUMGARD et al., 2002) que sintetizam ácidos graxos de cadeia curta e média na glândula mamária. Dessa forma, esse mecanismo explica o aumento na concentração de ácidos graxos trans e insaturados no leite e a redução dos ácidos graxos de cadeia curta e média com a suplementação com SCOS.

Nos últimos anos, especial interesse foi dado à inclusão de óleos vegetais pela sua capacidade de modificar a concentração de determinados ácidos graxos da gordura do leite, tornando mais interessantes ao consumo humano. Neste sentido, diversos estudos demonstraram que a suplementação com lipídios insaturados modifica o perfil lipídico do leite, reduzindo os ácidos graxos de cadeia curta e média, considerados maléficos a saúde humana e elevaram as concentrações de ácidos graxos de cadeia longa, considerados benéficos aos consumidores (BAUMAN et al., 2011;CORTES et al., 2010). Assim, a suplementação com SCOS permitiu alterar o perfil lipídico do leite, tornando-o mais apropriado ao consumo humano.

O perfil de ácidos graxos também foi alterado pela suplementação com SCOP. Também houve redução na quantidade de ácidos graxos de cadeia curta e média com a suplementação de SCOP. Além disso, houve aumento na quantidade de ácido palmítico no leite com a suplementação de SCOP. Esses resultados corroboram os descritos por Lock et al. (2013) que suplementaram acido palmítico purificado para vacas em lactação e observaram redução nos ácidos graxos de cadeia curta e média e aumento do ácido palmítico no leite. De acordo com esses autores, a incorporação de ácido palmítico no leite aumenta com a sua suplementação e ocorre redução dos ácidos graxos de cadeia curta e média no leite, em função da regulação que a glândula mamaria possui para manter a fluidez do leite.

No período residual os animais permaneceram na mesma dieta e no mesmo manejo. Não houve diferenças em CMS e digestibilidade dos nutrientes durante o período residual entre os animais em função dos tratamentos prévios. Além disso, o ECC e o peso corporal recuperaram-se progressivamente. A composição do leite não foi afetada pelos tratamentos prévios no período residual.

No entanto, a produção de leite continuou maior para o grupo que recebeu previamente SCOP até o final da lactação. Não houve diferença na produção do período residual entre o controle de SCOS. Esses resultados permitiram que a produção de leite em função da suplementação com gordura fosse elevada em toda a lactação. Em média a suplementação inicial com ambas as fontes de gordura permitiu um acréscimo de 14,1% (857,5 kg lactação^{-1}) na produção em toda a lactação, sendo esse aumento mais expressivo aos SCOP com aumento de 20,2% na produção na lactação em comparação ao controle. O efeito residual do fornecimento de gordura já foi relatado em outros trabalhos com animais mantidos em confinamento e para animais em pastagem (CHALUPA; FERGUNSON, 1990; HOFFMAN et al., 1991; SCHINGOETHE; CASPER, 1991; VILELA et al., 2002). Para vacas confinadas recebendo TMR e suplementadas no terço inicial de lactação com 1,5% de gordura, Schingoethe e Casper (1991) observaram acréscimo de 300 kg na lactação para o grupo recebendo gordura. Para vacas em pastagem, Vilela et al. (2002) suplementaram vacas no terço inicial de lactação com 700g de SCOP e observaram um acréscimo na lactação de 11,5% (490 kg de leite lactação^{-1}). Assim, os resultados do presente trabalho e do estudo de Vilela et al. (2002) indicam acréscimo maior da produção de leite de vacas mantidas em pastagens comparadas

com vacas mantidas em confinamento. Isso se deve provavelmente a maior limitação ao consumo de nutrientes que os animais em pastagens estão expostos, e como consequência quando recebem maior aporte de energia respondem em magnitude superior.

O período ideal para os animais receberem suplemento lipídico é discutido por diversos autores, mas Onetti e Grummer (2004) em sua revisão indicam que a suplementação tem maiores benefícios quando feita no início de lactação (até 120 dias). No entanto, Grummer (1992) indicou que essa questão é difícil de responder, mas que o obvio seria iniciar a suplementação logo após o parto. No entanto, segundo esse autor quando isso é feito, em geral não há uma resposta nas primeiras 4 – 7 semanas de lactação, em função dos animais estarem metabolicamente programados a ingerirem determinada quantidade de energia e, portanto não responderiam a suplementação lipídica. Entretanto, com animais a pasto isso parece não acontecer, visto que tanto nesse trabalho quanto no de Vilela et al. (2002), as vacas responderam prontamente a suplementação lipídica que em nosso estudo iníciou com 15 DEL. Os benefícios da suplementação com SCOP sobre o desempenho foram persistentes até o final da lactação, aumentando não apenas a produção de leite, mas também a produção de sólidos no leite.

5.5 Conclusão

A suplementação com sais de cálcio de óleo de soja aumentou a produção de leite durante o início e toda a lactação, mas reduziu o teor de gordura do leite, não aumentando a produção de sólidos na lactação e afetou negativamente o consumo e a digestibilidade da fração FDN.

O fornecimento de sais de cálcio de óleo de palma melhorou a produção de leite, não reduziu o consumo e a digestibilidade e permitiu melhorar a produção de leite e a produção de sólidos durante toda a lactação.

Ambas as fontes de gordura alteraram o perfil de ácidos graxos do leite, em que a suplementação com sais de cálcio de óleo de soja aumentou a quantidade de ácidos graxos insaturados no leite, enquanto a fonte com sais de cálcio de óleo de palma aumentou a incorporação de ácido palmítico no leite.

Referências

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.

ARTUNDUAGA, M.A.T.; COELHO, S.G.; LANA, A.M.Q. VALADARES FILHO, S.C. Incidência de doenças no pós-parto de primíparas da raça Holandesa alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, p. 616-623, 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 12nd ed. Washington, 1990. 1094 p.

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.; HARVATINE, K.J.; LOCK, A.L. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, Gainesville, v. 31, p. 299-319, 2011.

BRADFORD, B.J.; HARVATINE, K.J. ALLEN, M.S. Dietary unsaturated fatty acids increase plasma glucagon-like peptide-1 and cholecystokinin and may decrease premeal ghrelin in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 1443-1450, 2008.

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.; REYNAL, S.M. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 2822-2834, 2009.

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**. 2007. 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. LANA, R.P. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 130-138, 2008.

CHAGAS, L.J. **Teor de proteína no concentrado de vacas de vacas no terço inicial de lactação, mantidas em pasto de capim elefante**. 2011. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

CHALUPA, W.; FERGUSON, J.D. Immediate and residual responses of lactating cows on commercial dairies to calcium salts of long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 13-19, 1990.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives:** an overview of technical details. Buckburnd: Roweet Research Institute, 1992. 21 p.

CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **Europian Journal Lipids Science Technology**, Cambridge, v. 109, p. 828–855, 2007.

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

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D; CHIZZOTTI, F.H.M.; TEDESCHI, L.O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science,** Madison, v. 113, p. 218-225, 2008.

CORTES, C.; SILVA-KAZAMA, D.C.; KAZAMA, R.; GAGNON, N.; BENCHAAR, C.; SANTOS, G.T.D.; ZEOULA, L.M.; PETIT, H.V. Milk composition, milk fatty acid profile, digestion, and ruminal fermentation in dairy cows fed whole flaxseed and calcium salts of flaxseed oil. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, p. 3146-3157, 2010.

COWAN, R.T. Milk production from grazing systems in the Northern Australia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE O FUTURO DOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE LEITE NO BRASIL, 1996, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa, CNPGL, 1996. p. 41-49.

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

DePETERS, E.J.; CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 75, p. 2043-2070, 1992.

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.

DUSKE, K.; HAMMON, H.M.; LANGHOF, A.-K. HARMON, N. Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 1670-1684, 2009.

FONSECA, L.; MEZZALIRA, J.C.; BREMM, C.; RIBEIRO FILHO, S.A.; GONDA, H.L.; CARVALHO, P.C.F. Management targets for maximizing the short-term herbage intake rate of cattle grazing in sorghum bicolor. **Livestock Science,** Amsterdam, v. 145, p. 205–211, 2012.

GLASSER, F.; DOREAU, M.; MAXIN, G. BAUMONT, R. Fat and fatty acid content and composition of forages: a meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 185, p. 19-34, 2013.

GONZALEZ-RONQUILLO, 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.

GRUMMER, R.R. Feeding strategies for supplemental fat. In: VAN HORN, H.H.; WILCOX, C.J. (Ed.). **Large dairy herd management**. Gainesville: FSU,1992.

HARA, A.; RADIN, N.S. Lipid extraction of tissues with low toxicity solvent. **Analitics Biochemistry**, Champaign, v. 90, p. 420–426, 1978.

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.

HODGSON, J. **Grazing management:** science into practice. Essex: Longman Scientific & Technical, 1990. 213 p.

HOFFMAN, P.C.; GRUMMER, R.R.; SHAVER, R.D.; DRENDEL, T.R.; BRODERICK, G.A. Effects of supplemental fat and resistant protein in alfalfa silage diets fed to early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 234, 1990.

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.

JENKINS, T.C.; PALMQUIST, D.L. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, p. 978-986, 1984.

JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J.; MOSLEY, E.E. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 397-412, 2008.

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.

LOCK, A.L.; PRESEAULT, C.L.; RICO, J.E.; DELAND, K.E.; ALLEN, M.S. Feeding a C16:0-enriched fat supplement increased the yield of milk fat and improved conversion of feed to milk. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 96, p. 6650-6659, 2013.

MACEDO, F.L. **Doses de concentrado com ou sem gordura inerte na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais.** 2012. 121 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

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.

MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V.; HESS, B.W. Technical note: a procedure for preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, Montana, v. 82, p. 179-193, 2004.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.

NENNICH, T.D.; HARRISON, J.H.; Van WIERRINGEN, L.M.; St-PIERRE, N.R.; KINCAID, R.L.; WATTIAUX, M.A.; DAVIDSON, D.L.; BLOCK, E. Prediction and evaluation of urine and urinary nitrogen and mineral excretion from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 353-364, 2006.

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

POPPI, D.P., HUGHES, T.P., L’HUILLIER, P.J. Intake of pasture by grazing ruminants. In: NICOL, A.M. (Ed.). **Livestock feeding on pasture**. Hamilton: New Zealand Society of Animal Production, 1987. p. 55-64.

RABIEE, A.R.; BREINHILD, K.; SCOTT, W.; GOLDER, H.M.; BLOCK, E.; LEAN, I.J. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: a meta-analysis and meta-regression. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 95, p. 3225-3247, 2012.

REIS, R.B.; DANÉS, M.A.C. Adequação proteica em rações de vacas em confinamento. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS - MANEJO ALIMENTAR DE BOVINOS, 2011, Piracicaba. **Anais…** Piracicaba: FEALQ, 2011. p. 159-180.

RELLING, A.E.; REYNOLDS, C.K. Feeding rumen-inert fats differing in their degree of saturation decreases intake and increases plasma concentrations of gut peptides in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 1506–1515, 2007.

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.; 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.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT:** users guide. Version 9.0. ed. Cary, 2002.

SCHINGOETHE, D.; CASPER, D.P. Total lactational response to added fat during early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 2617-2622, 1991.

SCHROEDER, G.F.; GAGLIOSTRO, G.A.; BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; MULLER, L.D. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. **Livestock Production Science,** Amsterdam, v. 86, p. 1-18, 2004.

SIMAS, J.M.; HUBER, J.T.; THEURER, C.B.; CHEN, K.H.; SANTOS, F.A.P.; WU, Z. Influence of sorghum grain processing on performance and nutrient digestibilities in dairy cows fed varying concentrations of fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 1966–1971, 1998.

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.

_____. 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.

SWEENEY, R.A. Generic combustion method for determination of crude protein in feeds. **Journal of Official Analytical Chemists**, San Diego, v. 72, p. 770-774, 1989.

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.

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.

VOLTOLINI, T.V.; SANTOS, 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.

WEISS, W.P.; WYATT, D.J. Digestible energy values of diets with different fat supplements when fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 1446–1454, 2004.

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

WEISS, W.P.; PINOS-RODRIGUEZ, J.M.; WYATT, D.J. The value of different fat supplements as sources of digestible energy for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 931-939, 2011.

WILDMAN, E.E.; JONES, J.E.; WAGNER, P.E.; BOMAN, R.L.; TROUTT, H.F.; LESCH, T.N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 65, p. 495–501, 1982.

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

ZINN, R.A.; OWENS, F.N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. **Canadian Journal of Animal Science,** Ottawa, v. 66, p. 157-166, 1986.

6 FONTES E DOSES DE GORDURA PARA VACAS EM LACTAÇÃO MANTIDAS EM PASTAGEM TROPICAL SOBRE O DESEMPENHO, COMPOSIÇÃO DO LEITE E PARÂMETROS RUMINAIS

Resumo

Objetivou-se avaliar a suplementação de duas fontes e duas doses de sais de cálcio de ácidos graxos sobre o desempenho, composição do leite, variáveis ruminais e metabólicas e balanço energético de vacas mantidas em pastagem tropical. Foram utilizadas 5 vacas primíparas em delineamento utilizado foi o de quadrado latino 5X5. As vacas foram submetidas aos seguintes tratamentos: a) Controle (sem adição de gordura); b) 400g de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); c) 700g de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); d) 400g de sais de cálcio de óleo de palma (SCOP) e; e) 700g de sais de cálcio de óleo de palma (SCOP). Os tratamentos foram adicionados ao concentrado, fornecido duas vezes ao dia totalizando 8 kg de MS de concentrado dia^{-1} e pastejaram capim elefante (*Pennisetum purpureum*). A produção de leite foi afetada pela adição de gordura (P= 0,004), sendo influenciada pela fonte (P= 0,001) e pela dose de gordura (P= 0,009. O teor de gordura do leite foi influenciado pela fonte de gordura suplementada (P= 0,001) sendo que ambas as doses de SCOS deprimiram o teor de gordura comparado ao controle e ambas as doses de SCOP. O CMS sofreu influência da fonte de gordura suplementada (P= 0,05). O CMS diferiu entre o tratamento com 400g de SCOP e o com 700g de SCOS e não foram observadas outras diferenças significativas entre tratamentos. A digestibilidade aparente da MS foi influenciada pela fonte de gordura (P= 0,07), sendo que ambas as doses de SCOP apresentaram maiores valores comparado com as doses de SCOS e com o controle. A digestibilidade aparente do FDN foi afetada pela fonte de gordura (P= 0,05) e houve tendência de dose de gordura (P= 0,10). O consumo de energia liquida de lactação (ELL) não diferiu entre os tratamentos controle comparado a dose de 400g SCOS e a dose de 700g de SCOS. Em contrapartida, as doses de 400g de SCOP e 700g de SCOP aumentaram a ingestão de energia em comparação aos demais tratamentos. A energia secretada por kg de leite produzido não diferiu entre o controle e as doses SCOP. Porém, houve redução da energia secretada por kg de leite produzido nos tratamentos com 400g de SCOS e 700g de SCOS. Houve maior ganho de peso corporal para as doses de 400g de SCOS e 700g de SCOS comparado a dose de 400g de SCOP e ao controle. A eficiência de uso da energia para produção de leite foi maior para as doses de 400g de SCOP e 700g SCOP e para o controle em comparação ao 700g de SCOS. No entanto não foi observada diferença quanto à eficiência de uso da energia para as funções produtivas (produção + ganho de peso) entre os tratamentos. O pH ruminal não foi afetado pelos tratamentos experimentais. Os resultados dos ácidos graxos voláteis indicam que a fonte insaturada (SCOS) reduziu a produção de AGV's totais, em função da redução na concentração de acetato, butirato, isobutirato, valerato e isovalerato.

Palavras-chave: Depressão de gordura do leite; Sais de cálcio de óleo de palma; Sais de cálcio de óleo de soja; Variáveis ruminais

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of fed two sources and two doses of calcium salts of fatty acids on performance, milk yield, ruminal and metabolic parameters and energy balance in grazing dairy cows. Five primiparous crossbred Holstein x Jersey cows were used in a 5x5 Latin square design, in five periods with 14 days of adaptation and 10 days of collection. The cows were subjected to the following treatments: a) Control (no added fat) b) 400g of calcium salts of soybean oil (CSSO) c) 700g of calcium salts of soybean oil (CSSO) d) 400g of calcium salt of palm oil (CSPO) and e) 700 g of calcium salt of palm oil (CSPO). Milk yield was affected by the addition of fat (P = 0.004), being influenced by source (P = 0.001) and dose of fat (P = 0.009). The highest milk production was observed in treatment with 400g and 700g of CSPO compared with the control group and the CSSO with 700g. Milk fat content was influenced by the source of fat supplementation (P = 0.001) and both doses of 400g and 700g of CSSO depressed fat content compared to control and both doses of 400g and 700g of CSPO. The DMI was influenced by the source of fat supplementation (P = 0.05). The apparent DM digestibility was influenced by the fat source (P= 0.07), whereas both doses of CSPO were higher compared with the doses of CSSO and control. The apparent digestibility of NDF was affected by fat source (P = 0.05) and tended dose of fat (P = 0.10). The lowest NDF digestibility was observed in treatment with 700g CSSO. The intake of net energy of lactation (NEL) did not differ between control compared to the dose of 400g CSSO and with the dose of 700g of CSSO. The energy secreted per kg of milk did not differ between the control and the dose of 400g and 700g of CSPO. However, there was a reduction of energy secreted per kg of milk produced in the treatments with 400g and 700g of CSSO. Although unsaturated source reduced energy secreted in milk, they showed higher body weight gain in both doses compared to CSPO and the control. The efficiency of energy use for milk yield was higher for both doses of CSPO and the control compared to the 700g of SCOS. However, there was no difference in efficiency of energy use for productive functions (production + weight gain) among treatments. The ruminal pH was not affected by experimental treatments. The results of volatile fatty acids to unsaturated indicate that the source reduced the production of total VFA's, due to the reduction in the concentration of acetate, butyrate, isobutyrate, valerate and isovalerate. Overall, supplementation with CSSO reduced fiber degradation, decreased VFA’s production, and reduced microbial production of milk fat as compared to the CSPO source.

Keywords: Calcium salts of palm oil; Calcium salts of soybean oil; Milk fat depression

6.1 Introdução

O fator determinante que limita a produção de leite de vacas mantidas exclusivamente em pastagens tropicais não é o teor de proteína dessas plantas. Limitação na capacidade de ingestão de matéria seca de forragem parece ser o fator preponderante (SANTOS et al., 2003). Indiscutivelmente, maximizar o consumo de forragem de animais em pastejo é o grande desafio que se apresenta em sistemas

de produção em pastagens tropicais. O consumo de forragem é determinado por fatores intrínsecos do animal, como sua capacidade de ingestão, oferta de forragem e fatores intrínsecos do pasto como a concentração de nutrientes, taxa de degradação e de passagem ruminal, composição morfológica e estrutura do pasto pré e pós-pastejo (GOMIDE et al., 2001).

Atingido o potencial máximo de produção de leite exclusivo em pastagem, a suplementação se torna, então, em uma ferramenta fundamental quando o objetivo é aumentar a produção de leite por vaca, com impacto positivo também na lotação dos pastos e consequentemente na produção de leite por área. Porém, se houver a utilização de fontes de amido em quantidades excessivas, outros distúrbios metabólicos, como a acidose, podem ocorrer ou afetar a digestão de demais componentes da dieta. Para contornar esta situação, tem sido proposto o aumento na densidade calórica via inclusão de lipídios (SCHROEDER et al., 2004).

Estudos revisados por Bargo et al. (2003) sugeriram haver efeito aditivo no uso de lipídios saturados quando a dieta é constituída principalmente por forragem, resultando em aumento na gordura do leite. Esses mesmos autores relataram que a inclusão de lipídios para vacas mantidas em pastagens, promove um aumento médio de 6% na produção de leite. Schroeder et al. (2004) em revisão com a suplementação de gordura para animais a pasto relataram aumento na produção de leite na ordem 4,5% e pouco efeito sobre o consumo.

Em contrapartida, a inclusão de níveis elevados de lipídios insaturados pode modificar a fermentação ruminal, afetando negativamente a digestão da fibra. A redução na digestibilidade da fração fibrosa estaria associada à formação de cobertura de gordura sobre as fibras presentes na dieta, que consequentemente ocasionam inibição do contato das enzimas hidrolíticas livres na luz ruminal e das células microbianas às partículas de alimento. A fixação dos microrganismos nas partículas é necessária para que haja a digestão da celulose no rúmen (JENKINS, 1993; KOSLOSKI, 2009). Além disso, a inclusão de altas quantidades de óleos insaturados pode acarretar em efeito tóxico sobre os microrganismos ruminais (JENKINS et al., 2008). Dessa forma, os sais de cálcio foram desenvolvidos com o propósito de minimizar esses efeitos negativos da suplementação lipídica. Alguns estudos demonstraram que há menor perturbação nos padrões de fermentação ruminal com adição de sais de cálcio quando comparados à adição de óleos (JENKINS et al., 2008).

No entanto, na revisão de Schroeder et al. (2004) somente foram incluídos trabalhos de suplementação de gordura para animais mantidos em pastagens temperadas. Pouco se sabe sobre a suplementação de lipídios para vacas mantidas em pastagens tropicais, e os resultados existentes são divergentes quanto ao beneficio de suplementar gordura (MACEDO, 2012; VILELA et al., 2002). Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a suplementação de duas fontes e duas doses de sais de cálcio de ácidos graxos sobre o desempenho, composição do leite, parâmetros ruminais e metabólicos e balanço energético de vacas mantidas em pastagem tropical.

6.2 Material e Métodos

6.2.1 Descrição do experimento, delineamento e animais, e coletas do concentrado

O experimento foi conduzido nas instalações do Departamento de Zootecnia da Esalq/USP entre os meses de Janeiro de 2012 à Maio de 2012. Foram utilizadas 5 vacas primíparas mestiças Holandês X Jersey provenientes do rebanho da ESALQ – USP, canuladas no rúmen para esse experimento, com média de 115 ± 8,1 dias em lactação (DEL), 16,5 ± 3,1 kg de leite dia^{-1} e 428 ± 14 kg de peso corporal no início do experimento. O delineamento utilizado foi o de quadrado latino 5X5, em que os tratamentos foram sorteados em cinco períodos com duração de 24 dias em cada, sendo 14 dias de adaptação as dietas e 10 dias de coletas. Todos os animais receberam previamente ao início do experimento a mesma dieta e manejo.

As vacas foram submetidas aos seguintes tratamentos: a) Controle (sem adição de gordura); b) 400g de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); c) 700g de sais de cálcio de óleo de soja (SCOS); d) 400g de sais de cálcio de óleo de palma (SCOP) e; e) 700g de sais de cálcio de óleo de palma (SCOP). Os tratamentos foram adicionados ao concentrado, fornecido duas vezes ao dia as 04h00 e as 15h00, antes da ordenha, totalizando 8 kg de MS de concentrado dia^{-1}. Os concentrados foram isoproteicos e a adição de gordura foi feita retirando o ingrediente milho (Tabela 1). Durante o período experimental os animais tiveram acesso ilimitado à área de pastagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameron).

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

6.2.2 Manejo da pastagem e mensuração de variáveis relacionadas ao dossel

Os animais permaneceram em pastagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameron) em área de 5 ha juntamente com os animais do experimento de desempenho relatado no Capítulo 2. A pastagem foi adubada com 60 kg de nitrogênio (N) a cada ciclo de pastejo. O sistema de pastejo utilizado foi o rotativo baseado na altura do dossel de 103 cm como critério de entrada, como previamente sugerido por Voltolini et al. (2010). Todos os animais pastejaram em lote único piquetes de 2000 m², e permaneceram em média 1 dia em cada, sempre tendo acesso ao novo piquete na parte da tarde, e com acesso ilimitado a água e área de sombra. A saída dos animais do lote experimental foi prevista quando o dossel tivesse 60 cm de altura e em seguida, um lote de repasse com animais de menor produção foi utilizado para rebaixar o dossel entre 40 e 50 cm.

A altura média do dossel forrageiro foi medida em cada piquete previamente a entrada e logo após a saída do lote experimental, traçando 4 linhas imaginárias paralelas e equidistantes com a amostragem feita em 5 pontos dentro de cada linha (20 pontos por piquete). Após o repasse com o grupo de menor produção de leite, a altura do piquete foi novamente medida na mesma metodologia supracitada.

As massas de forragem em pré e pós pastejo foram determinadas pelo método destrutivo, cortando-se a planta a cinco centímetros do solo, em quatro pontos por piquete, escolhidos de forma aleatória. A moldura utilizada na coleta tinha as dimensões de 1,5m x 0,75m. As amostragens foram realizadas uma vez por semana durante todo o período experimental. O material coletado nos quatro pontos do piquete foi pesado, homogeneizado e duas subamostras de 1000g 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 55ºC por 72 horas. A segunda subamostra foi utilizada para a determinação da composição morfológica

do dossel e separada em folha (lâmina foliar), 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 55ºC 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 do extrato pastejado colhidos em 20 pontos distintos dentro de cada piquete duas vezes por semana para compor uma amostra por mês. As amostras foram secas da mesma forma como descritas acima, moídas em moinho do tipo Willey em peneira de 1 mm, compostas por mês e mantidas em recipientes plásticos vedados em temperatura ambiente até a realização das determinações químicas.

6.2.3 Produção e composição do leite

Durante cada período experimental, as vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia as 04h30 e as 16h00 e a produção foi mensurada a cada dois dias. Além disso, foram coletadas amostras de leite para determinação da composição química a cada 6 dias em tubo coletor plástico de 100 mL contendo 2-bromo 2-nitropropano-1-3-diol, homogeneizada e armazenada em geladeira a 8ºC 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: gordura, proteína, caseína, lactose e nitrogênio ureico pelo processo de infravermelho; 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 por meio da fórmula descrita por Bremmer et al. (1997):

$$\text{PLCG} = ((0{,}4324\ x\ PL\ (kg)) + (16{,}216\ x\ produção\ de\ gordura\ (kg))$$

6.2.4 Excreção fecal e consumo

Para estimar o consumo de forragem as vacas foram dosadas colocando-se diretamente no rúmen o marcador dióxido de titânio fornecido duas vezes ao dia na

forma de “péletes” contendo 10 g cada, durante 15 dias. As vacas receberam o marcador a partir do 5º dia de cada período seguidos de 10 dias de adaptação e 5 de coleta de fezes (entre o 15º e 19º dia do período), realizada duas vezes ao dia, antes de cada ordenha. Ao final as amostras foram compostas por vaca e período, secas em estufa de ventilação forçada à 55º C durante 72h, moídas em moinhos a 1 mm e armazenadas em frascos plásticos à temperatura ambiente para posterior análise, sendo uma subamostra utilizada para as determinações químicas e calculo das digestibilidades outra para a determinação de titânio e calculo do consumo.

As amostras de fezes foram analisadas para as concentrações de titânio no laboratório de tecidos vegetais do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP. Para a determinação da concentração de titânio foi empregada a metodologia descrita por Myers et al. (2004), em que as amostras de fezes foram digeridas em ácido sulfúrico e, realizada a leitura em espectrofotômetro UV a 410 nm, sendo que foi usada uma curva de calibração com concentração conhecida de titânio para interpolação dos dados.

Foi utilizada a concentração de FDNi para a determinação da indigestibilidade necessária ao cálculo das estimativas de consumo. Amostras de fezes de cada animal, concentrado e forragem moídos a 1 mm, foram acondicionadas em bolsas filtro F-57 (Ankom®) e incubados em triplicatas no rúmen de uma vaca fistulada por 240 horas (CASALI et al., 2008). 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® (100º C por 1 hora). Posteriormente, as bolsas filtro foram lavadas com água quente (6 lavagens) e com acetona (1 lavagem) e em seguida foram secas em estufa por 12 horas e o resíduo foi considerado o FDNi. O conteúdo de FDNi do concentrado, da forragem e da silagem foi dividido pelo FDNi das fezes de cada animal para o calculo da indigestibilidade.

A excreção fecal (EF) foi calculada conforme a formula abaixo:

$$\mathrm{EF}\ (\mathrm{kg\ dia^{-1}}) = \frac{Quantidade\ do\ marcador\ administrado}{Concentração\ do\ marcador\ nas\ fezes}$$

A contribuição fecal proveniente do concentrado (EF concentrado) foi determinada como sendo a quantidade de concentrado oferecida, multiplicada por sua indigestibilidade. Do valor obtido de EF foi descontada a contribuição do concentrado e o valor obtido foi dividido pela indigestibilidade da forragem. Sendo assim, o consumo de pasto ou consumo de silagem foi calculado com a equação:

$$\text{Consumo de pasto (kg)} = \frac{EF - EF\ concentrado}{Indigestibilidade\ do\ capim}$$

6.2.5 Análises químicas e digestibilidade aparente dos nutrientes

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP. Amostras de concentrado, forragem, e fezes foram secas em estufa de ventilação forçada à 105º C durante 24h para determinação da MS. O conteúdo de cinzas foi determinado após combustão à 550º C durante 4h. O teor de extrato etéreo (EE) foi determinado de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (1990), sendo que para a extração de gordura dos sabões de cálcio foi utilizado o ácido acético glacial na proporção de 1:10 com o éter de petróleo de acordo com Sukhija e Palmquist (1988). O conteúdo de N foi determinado pelo método de combustão de Dumas (Leco FP-2000 N analyzer) de acordo com Sweeney (1989). Os teores de FDN, FDA e lignina foram determinados usando o método de Van Soest et al. (1991), com sulfito de sódio para todas as amostras e α – Amilase para as amostras de concentrado.

As digestibilidades aparentes da MS, MO, PB, FDN (FDN corrigida para cinzas e proteína), e EE presentes na dieta foram estimadas utilizando os valores individuais de consumo, excreção fecal calculada a partir da utilização do indicador dióxido de titânio e da concentração dos nutrientes nos alimentos e fezes, conforme equação apresentada abaixo:

$$\text{DAN (\%)} = \frac{(Consumo\ x\ CN) - (Excreção\ fecal\ x\ CN)}{(Consumo\ X\ CN)}\ X100$$

Em que:

DAN (%) é a digestibilidade aparente do nutriente;

CN é a concentração do nutriente.

6.2.6 Variáveis ruminais

No 20º dia do período experimental, amostras de líquido ruminal (± 100 mL) foram tomadas de 4 pontos na região ventral do rúmen, com auxílio de cano de PVC perfurado nos 10 cm finais, com recipiente coletor na extremidade.

A primeira amostragem ocorreu imediatamente antes da oferta do concentrado matinal e as amostras subsequentes foram coletadas nos tempos estabelecidos de 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, e 24 horas (BRODERICK; REYNAL, 2009). A amostra tomada do rúmen foi filtrada em camada dupla de tecido de algodão, coletando-se o líquido e devolvendo a parte sólida para o rúmen. Imediatamente o líquido ruminal foi homogeneizado e seu valor de pH mensurado por meio da leitura em potenciômetro digital. Simultaneamente, outras duas alíquotas de 50 mL deste líquido ruminal foram acidificadas com 1 mL de ácido sulfúrico 50% (BRODERICK; REYNAL, 2009) e congeladas em freezer (-20ºC), em dois recipientes separados, para posteriores análises de nitrogênio amoniacal (N-NH3) e ácidos graxos voláteis (AGV).

As concentrações dos AGV foram determinadas por cromatografia líquida-gasosa segundo Erwin et al. (1961), e a concentração de N-NH3 no fluido ruminal foi avaliada conforme método de Chaney e Marback (1962).

6.2.7 Consumo de energia, energia secretada no leite e eficiência

O NDT foi calculado a partir da equação de Weiss et al. (1992) utilizando os valores da composição química dos alimentos e da digestibilidade aparente dos nutrientes calculados a partir dos dados obtidos no experimento. Em função de a equação supracitada levar em conta um fator de ajuste de -7 para a correção fecal para corrigir os valores de digestibilidade verdadeira para aparente, nesse estudo em virtude do uso do valor de digestibilidade aparente, não foi aplicado o fator de correção. O consumo de energia liquida de lactação foi obtido por meio do consumo de forragem e de concentrado multiplicado pelo valor de ELL do concentrado e

forragem. Todos os valores de ELL foram obtidos com as equações do NRC (2001). Para o calculo da ELL por kg de leite, foi adotada a equação do NRC (2001):

$$ELL\ (Mcal) = (0{,}0929 \times gordura\ \%) + (0{,}0563 * proteína\ \%) + (0{,}0395 \times Lactose\%)$$

A quantidade de ELL secretada por dia no leite foi calculada usando a equação acima multiplicada pelo volume de leite produzido. A energia do ganho foi calculando o ganho de peso vazio (peso corporal X 0,817) e multiplicado por 5,62 Mcal/ kg, de acordo com o NRC (2001). A ELL disponível para mantença foi calculada como a diferença entre o consumo de ELL e a ELL secretada no leite e no ganho.

A eficiência de uso de energia foi calculada dividindo-se a ELL secretada no leite pelo consumo de ELL. A eficiência de produção foi calculada como a soma da ELL secretada no leite + a ELL de ganho, e posteriormente dividindo pela ELL consumida.

6.2.8 Comportamento Animal

As avaliações do comportamento animal (pastejo, ruminação, ócio e outros) de cada animal durante o período experimental foram feitas visualmente no 21º dia do período experimental durante 24 h, com intervalos de 10 minutos entre as visualizações. Nos períodos em que os animais estavam a caminho da sala de ordenha ou do piquete e durante a ordenha não foram feitas tais observações, sendo consideradas outras atividades.

6.2.9 Coleta de urina, síntese microbiana e eficiência do uso do N

A urina foi coletada para a determinação dos derivados de purina e calculo da síntese microbiana. Quatro horas após o fornecimento dos concentrados, no 23º dia de cada período experimental, a urina foi coletada na forma “spot” (uma amostra por animal) por meio de estímulo via massagem na vulva. Uma alíquota de 10 mL da urina coletada foi filtrada em gaze, diluída em 40 mL de H_2SO_4 (0,072N) conforme descrito por Broderick e Reynal (2009), e armazenada à -18ºC para posteriores análises.

As análises de purinas 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 centrifugadas a 2000 rpm. Dois mL do sobrenadante foram transferidos para outro frasco, onde foram adicionados 2,75 mL do tampão A (solução de $NH_4H_2PO_4$ 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.

Para os cálculos de síntese microbiana, a concentração de creatinina foi utilizada para estimar o volume de urina, assumindo o valor proposto por Chizzotti et al. (2008) de 0,213 mmol/kg PC. Após o calculo do volume urinário e tendo as concentrações de alantoína e ácido úrico foi calculado a excreção diária de derivados de purinas de acordo com Chen e Gomes (1992). A contribuição endógena dos derivados de purina foi tida com 0,512 mmol/ kg de peso metabólico (GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003) e descontado do valor de excreção de derivados de purinas. A recuperação das purinas absorvidas como derivados de purina na urina foram tidos como 74% (GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003). Assim o calculo de purinas absorvidas foi realizado conforme equação abaixo:

$$\text{Purinas absorvidas (mmol } dia^{-1}) = \frac{Excreção\ DP - contribuição\ endógena}{Recuperação\ de\ purinas\ na\ urina}$$

A partir da quantificação das purinas absorvidas, calculou-se o N microbiano assumindo que a quantidade de N das purinas foi constante e equivalente a 70 mg N/mmol e a digestibilidade intestinal foi de 83% (CHEN; GOMES, 1992). A relação Npurina:N total assumida foi de 0,149 (ZINN; OWENS, 1986) e o valor de N microbiano foi multiplicado por 6,25 para obter-se a síntese de proteína microbiana. O calculo do N microbiano é apresentado na equação abaixo:

$$N\ microbiano\ (g\ dia) = \frac{Purinas\ absorvidas\ X\ quantidade\ de\ N\ nas\ purinas}{Relação\ Npurina{:}\ Ntotal\ x\ Dig.purinas\ x\ 1000}$$

Para o cálculo da eficiência de uso do nitrogênio (EUN) a quantidade de N consumido foi obtida dividindo o consumo de PB pelo fator de 6,25. O N do leite foi

obtido dividindo-se a produção de proteína do leite pelo fator de 6,38. Assim a EUN foi obtida conforme a formula abaixo:

$$EUN\ (\%) = \frac{N\ secretado\ no\ leite\ (g)}{Consumo\ de\ N\ (g)} x100$$

O N excretado nas fezes foi calculado a partir dos valores de excreção fecal multiplica pela concentração de N nas fezes. O N excretado na urina foi calculado de acordo com a equação proposta por Nennich et al. (2006).

6.2.10 Variáveis sanguíneas

No 24º do período experimental foram coletadas amostras de sangue após 4 horas do fornecimento do concentrado. O sangue foi retirado por meio de punção na veia coccígea em tubos com vácuo contendo conservante fluoreto de sódio ou EDTA, e centrifugado a 3200 RPM por 15 minutos. 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, com filtro de absorbância de 505 nanômetros (nm). Uma alíquota de 10 µL da amostra foi pipetada em tubos tipo “eppendorfs”, acrescida de 400 µL de reagente contido no kit. Após incubação de 10 minutos em banho-maria à 39º C, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de glicose. A curva de calibração construída apresentou R^2= 0,997.

A determinação de N ureico no plasma foi realizada a partir do kit enzimático HK Liquiform (Ref. 104 - LABTEST Diagnóstica S.A.) por espectrofotometria, com filtro de absorbância de 340 nm. Uma alíquota de 10 µL da amostra foi pipetada em tubos tipo “eppendorfs”, acrescida de 1 mL de reagente contido no kit. Após incubação de 10 minutos em banho-maria à 37º C, foi realizada a leitura da absorbância. A curva de calibração construída apresentou R^2= 0,99.

A determinação dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi realizada com o kit enzimático NEFA (Ref. FA115 – Randox Laboratories), com leitura em espectrofotômetro utilizando filtro de absorbância de 540nm. O padrão interno (1 mmol/L) foi diluído em água destilada para obtenção da curva de calibração de 0;

0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mmol/L. Dez µL de amostras de plasma foram pipetados em tubos tipo “eppendorfs” seguidas de 200 µL de reagente enzimático A. Em seguida, foram incubadas em estufa a 37ºC por 5 minutos. Após este período, 400 µL de reagente enzimático B foi adicionado da mesma maneira e incubado por mais 5 minutos, sendo a leitura das amostras realizada 3 minutos após a retirada da estufa. A curva de calibração apresentou R^2= 0,994.

6.2.11 Perfil de ácidos graxos

As amostras de alimentos utilizadas para determinação do perfil de ácidos graxos dos alimentos foram coletadas nos mesmos dias das coletas de leite para análise de perfil, sendo congeladas em freezer a -20ºC até a realização das análises. 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 de suplementação de gordura. Para determinação do perfil de ácidos graxos das amostras dos alimentos, as amostras foram descongeladas, liofilizadas e a gordura extraída e metilada segundo metodologia descrita por Sukhija e Palmquist (1988). 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 0,20µm de espessura do filme. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste, numa vazão de 1,8mL min^{-1}. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70ºC com tempo de espera 4 minutos, a 175ºC (13ºC por minuto) e tempo de espera 27 minutos, 215ºC (4ºC por minuto) e tempo de espera 9 minutos e, em seguida, aumentando 7ºC por minuto até atingir 230ºC, permanecendo por 5 minutos, perfazendo um total de 65 minutos. A temperatura do vaporizador foi de 250ºC e a do detector foi de 300ºC.

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 ácidos graxos foram obtidas por meio do software – Chromquest 4.1 (Thermo Electron, Italy).

6.2.12 Análises estatísticas

Os dados foram testados antes da análise geral final, na intenção de assegurar que todas as premissas da análise de variância fossem respeitadas. Os dados foram analisados por meio do pacote estatístico do SAS (SAS, 2002), com o auxílio do procedimento MIXED. Para as análises com medidas repetidas no tempo (produção de leite, composição e AGV´s) o modelo incluiu como efeito fixo o tratamento. Como efeito aleatório foi considerado o período e o animal. As médias foram geradas pelo LSMEANS e comparadas pelo teste de Tukey, sendo declaradas diferentes quando o $P < 0,05$ e tendência até $P< 0,10$. Contrastes ortogonais foram construídos para avaliar grupos de médias, gerando três contrastes: 1) controle vs. gordura; 2) SCOS vs. SCOP; e 3) 400g vs. 700g.

Para as variáveis: consumo, digestibilidade dos nutrientes, comportamento animal, síntese microbiana, eficiência do uso do N, variáveis sanguíneas, peso e condição corporal as análises estatísticas foram realizadas considerando um modelo misto incluiu o efeito fixo de tratamento e o efeito aleatório de período e animal. As médias foram geradas pelo LSMEANS e comparadas pelo teste de Tukey, sendo declaradas diferentes quando o $P < 0,05$ e tendência até $P< 0,10$. Contrastes ortogonais foram construídos para avaliar grupos de médias, gerando três contrastes: 1) controle vs. gordura; 2) SCOS vs. SCOP; e 3) 400g vs. 700g.

Em ambas as análises, a matriz de covariância foi escolhida baseada nos parâmetros de Akaike (AIC) e Bayesian (BIC).

6.3 Resultados e Discussão

A formulação dos concentrados experimentais e a composição química da forragem e dos concentrados são apresentados na Tabela 2.

Na formulação dos concentrados a adição de gordura foi feita em substituição ao milho moído. A adição de ureia foi complementar para que os concentrados fossem isoproteicos, o que confirmou-se após as análises químicas. A adição de 400 g de gordura proporcionou aumentar a energia liquida de lactação dos concentrados de 1,92 Mcal kg^{-1} para 2,05 Mcal kg^{-1}, e a adição de 700g elevar para 2,14 Mcal kg^{-1} e apesar das fontes das gorduras utilizadas serem diferentes em perfil de ácidos graxos, as composições químicas foram similares, o que gerou mesma ELL por kg

de suplemento concentrado fornecido. Além disso, a composição química da forragem indica que a quantidade de proteína bruta foi elevada, e a quantidade de FDN esteve dentro das expectativas e em geral a forragem apresentou boa qualidade. A composição média da pastagem é a mesma descrita no capítulo 4, em função dos animais permanecerem na mesma área em grupo único.

Tabela 2 – Composição química do extrato pastejado e dos concentrados experimentais

	Forragem	**Concentrado**				
		Controle	**SCOS**		**SCOP**	
Ingredientes			**400g**	**700g**	**400g**	**700g**
Milho		82,80	77,82	74,10	77,82	74,10
Farelo de soja		12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Bicarbonato de sódio		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Gordura inerte		0,00	4,88	8,50	4,88	8,50
Ureia		0,20	0,30	0,40	0,30	0,40
Mineral		4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Total		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição química						
MS (%)	19,8	88,8	89,4	89,8	89,3	89,8
PB (%)	18,3	14,8	14,4	14,4	14,4	14,4
EE (%)	2,8	3,7	7,2	9,8	7,2	9,8
FDN (%)	54,2	9,3	8,8	8,4	8,8	8,4
FDA (%)	37,5	3,4	3,2	3,1	3,2	3,1
Lignina (%)	3,2	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3
Cinzas (%)	11,2	6,8	7,2	7,4	7,2	7,4
ELL (Mcal/kg)	1,47	1,92	2,05	2,14	2,05	2,14

A produção de leite (Tabela 3) foi afetada pela adição de gordura (P= 0,004), sendo influenciada pela fonte (P= 0,001) e pela dose de gordura (P= 0,009). A maior produção de leite foi observada no tratamento com SCOP não diferindo entre as doses aplicadas de 400g e 700g (17,6 vs. 17,7 kg dia-1) comparado com o grupo controle (16,6 kg dia-1) e ao SCOS com 700g (15,9 kg dia-1). Resultados similares foram relatados por Schroeder et al. (2002) que suplementaram vacas em início de

lactação mantidas em pastagem com dose diária de 500 e 1000g de gordura hidrogenada e relataram aumento na produção de leite com a suplementação de gordura na ordem de 2,0 kg comparado ao controle, porém não houve diferença entre as doses de gordura.

O teor de gordura do leite foi influenciado pela fonte de gordura suplementada (P= 0,001) sendo que ambas as doses de 400g e 700g de SCOS deprimiram o teor de gordura (3,25 e 3,04%, respectivamente) comparado ao controle (3,76%) e ambas as doses de 400g e 700g de SCOP (4,02 e 3,88%, respectivamente). Essa redução expressiva no teor de gordura do leite de 13,6 e 19,1% para as doses de 400 e 700g de SCOS não era esperada visto a suplementação de lipídios na forma protegida. A depressão de gordura com lipídios insaturados é causada pela mudança nas rotas de bio-hidrogenação de ácidos graxos no rúmen levando a formação de isômeros trans e passagem desses isômeros até a glândula mamária, onde esses reduzem a capacidade lipogênica e transcrição de genes de enzimas lipogênicas responsáveis pela síntese de novo de ácidos graxos (BAUMAN et al., 2011). No entanto a magnitude de depressão está acima do relatado em revisão de Schroeder et al. (2004) que para fontes insaturadas para vacas em pastejo relataram depressão média de 8,5%. Esses resultados indicam que provavelmente a fonte utilizada em nosso estudo teve uma alta dissociação ruminal, e resultou em grande passagem de isômeros que deprimiram a gordura do leite.

Como consequência da depressão de gordura, a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura foi afetada pela fonte de gordura (P= 0,001) e pela dose (P= 0,03). A menor produção de leite corrigida foi observada no tratamento com SCOS na dose de 700g (14,7 kg dia^{-1}) que foi menor que o controle (17,1 kg dia^{-1}) e ao SCOS na dose de 400g (16,5 kg dia^{-1}), e esses por sua vez foram menores que os tratamentos com 400g SCOP (19,2 kg dia^{-1}) e 700g SCOP (18,8 kg dia^{-1}). Os resultados estão de acordo com a revisão de Schroeder et al. (2004) que relataram acréscimo médio de 7,3% com adição de gordura de fontes saturadas, e redução de 0,2% com adição de fontes de gordura insaturadas sobre a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura. Em nosso estudo o aumento da produção corrigida foi de 12,3 e 10% para as doses de 400 e 700g de SCOP, respectivamente, comparadas com o controle. A depressão em produção corrigida também foi mais acentuada, sendo de 3,5 e 14% para as doses de 400 e 700g de SCOS,

respectivamente, comparadas com o controle. Os resultados de nosso estudo sugerem que a produção de leite responde em magnitude superior a suplementação com gordura para animais em pastagens tropicais comparado aos de pastagens temperadas e que a suplementação com gordura saturada promove benefícios produtivos superiores as fontes insaturadas.

Os teores de proteína, lactose caseína e extrato seco desengordurado (ESD), bem como a contagem de células somáticas (CCS) e o N ureico do leite não foram afetados pelos tratamentos experimentais. O teor de sólidos totais diferiu entre o controle vs. gordura (P=0,05) e entre as fontes de gordura (P= 0,001). O controle (12,63%), a dose de 400g de SCOP (12,65%) e a dose de 700g de SCOP (12,59%) não diferiram entre si, porém foram maiores que o teor de sólidos totais do tratamento com 400g de SCOS (11,95%) e 700g de SCOS (11,85%). Esses resultados foram influenciados pelo teor de gordura, visto que os demais constituintes do leite não foram alterados.

A produção de gordura foi influenciada pela fonte de gordura (P= 0,001) e pela dose de gordura (P= 0,04). A menor produção de gordura foi relatada no tratamento com 700g de SCOS (484,3g dia^{-1}), seguido pela dose de 400g de SCOS (559,1g dia^{-1}) e pelo grupo controle (623,3g dia^{-1}). As maiores produções de gordura foram observadas em ambas as doses de SCOP. A produção de proteína e a produção de caseína não diferiram entre o controle e a dose de 400g de SCOS e ambos os tratamentos não diferiram do tratamento com 700g de SCOS.

Tabela 3 – Produção e composição do leite de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura mantidas em pastagem tropical

	Controle	SCOS		SCOP		EPM	P	Contrastes		
		400 g/dia	700 g/dia	400 g/dia	700 g/dia			Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
Produção de leite (kg dia^{-1})	16,6 b	17,1 ab	15,9 c	17,6 a	17,7 a	0,33	0,004	0,09	0,001	0,009
PL corrigida (kg dia^{-1})[1]	17,1 b	16,5 b	14,7 a	19,2 a	18,8 a	1,08	0,001	0,45	0,001	0,03
% de gordura	3,76 a	3,25 b	3,04 b	4,02 a	3,88 a	0,15	0,001	0,10	0,001	0,12
% de proteína	3,44	3,34	3,41	3,37	3,35	0,14	0,62	0,34	0,65	0,75
% lactose	4,55	4,57	4,53	4,59	4,53	0,08	0,29	0,44	0,64	0,72
% caseína	2,61	2,61	2,68	2,59	2,59	0,13	0,45	0,72	0,17	0,37
% sólidos totais	12,63 a	11,95 b	11,85 b	12,65 a	12,59 a	0,25	0,005	0,05	0,001	0,62
Prod. de gordura (g dia^{-1})	623,3 b	559,1 c	484,3 d	717,1 a	693,3 a	36,3	0,01	0,71	0,001	0,04
Prod. de proteína (g dia^{-1})	571,2 ab	581,8 ab	535,4 b	606,7 a	601,0 a	43,4	0,01	0,57	0,006	0,10
Prod. de lactose (g dia^{-1})	756,1 b	801,9 ab	716,2 c	823,8 a	822,0 a	62,9	0,01	0,05	0,001	0,008
Prod. de caseína (g dia^{-1})	433,3 ab	454,8 a	417,5 b	467,6 a	466,4 a	36,4	0,02	0,34	0,04	0,14
ESD (%)	8,91	8,98	8,84	8,98	8,87	0,19	0,55	0,45	0,65	0,34
CCS (log)	1,93	1,78	2,05	1,66	1,84	0,30	0,45	0,67	0,62	0,38
N ureico (mg/dl)	10,98	10,21	9,98	10,98	10,93	0,76	0,24	0,43	0,48	0,15

[1] Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura.

O consumo de matéria seca (CMS) tendeu (P= 0,10) a diferir entre os tratamentos experimentais (Tabela 4). O CMS sofreu influência da fonte de gordura suplementada (P= 0,05). O CMS diferiu entre o tratamento com 400g de SCOP e o com 700g de SCOS (16,3 vs.14,9 kg) e não foram observadas outras diferenças significativas entre tratamentos. Em meta-análise Rabiee et al. (2012) indicaram redução de consumo de 0,64 kg MS dia^{-1} com a adição de SCOP na dieta. No entanto, na revisão de Schoroeder et al. (2004) a suplementação com gordura para animais a pasto não reduziu o CMS, em função da maioria do banco de dados utilizado na revisão ser composto por trabalhos com suplementação de gordura provenientes de fontes saturadas, onde em geral não há depressão do consumo. A adição de fontes insaturadas geralmente deprime o CMS (ALLEN, 2000), e esses resultados são atribuídos principalmente aos seus efeitos negativos sobre a fermentação ruminal (JENKINS, 1993) e um efeito pós-ruminal sobre hormônios que regulam a saciedade (BRADFORD et al., 2008).

O consumo de matéria orgânica (CMO) seguiu o mesmo padrão do CMS e diferiu entre o tratamento com 700g de SCOS e o com 400g de SCOP e o (13,2 vs.14,7 kg) e não foram observadas outras diferenças significativas entre os demais tratamentos. O consumo de proteína bruta (CPB) não diferiu entre os tratamentos à $P < 0,05$, porém houve uma tendência de diferença entre o tratamento com 400g de SCOP e o com 700g de SCOS (P= 0,09). O consumo de extrato etéreo (CEE) como era esperado foi influenciado pela dose (P= 0,001) e diferiu do controle para as fontes de gordura (P= 0,001), enquanto não foram observadas diferenças entre as fontes (P= 0,34). O consumo de FDN (CFDN) não diferiu entre as doses de gordura (P= 0,23) e entre a comparação entre o controle e os tratamentos com gordura (P= 0,22). No entanto, foi observada tendência dos tratamentos com SCOS apresentarem menor CFDN em comparação com os tratamentos com SCOP (P= 0,10). O menor CFDN foi observado para o tratamento com 700g de SCOS em comparação com a dose de 400g de SCOP e com o controle.

A digestibilidade aparente da MS foi influenciada pela fonte de gordura (P= 0,07), sendo que ambas as doses de SCOP apresentaram maiores valores comparado com as doses de SCOS e com o controle. A digestibilidade aparente da MO seguiu a mesma tendência da digestibilidade da MS e foi influenciada pela fonte de gordura (P= 0,06), sendo que ambas as doses de SCOP apresentaram maiores valores comparado com as doses de SCOS e com o controle. Não houve efeito de

dose, fonte ou entre o controle vs. gordura quanto a digestibilidade aparente da proteína bruta. A digestibilidade do extrato etéreo não foi influenciada pela fonte de gordura, nem pela dose de gordura, porém o contraste entre o controle e as gorduras foi significativo (P= 0,002), sendo superior na gordura em comparação com o controle. A digestibilidade aparente do FDN foi afetada pela fonte de gordura (P= 0,05) e houve tendência de dose de gordura (P= 0,10). A menor digestibilidade do FDN ocorreu no tratamento com 700g de SCOS e ambas as doses de SCOP não deprimiram a digestibilidade do FDN em comparação com o controle. Embora os suplementos lipídicos raramente influenciem na digestibilidade da MS e da MO (WEISS et al., 2011), quando ocorre diferenças na digestibilidade da fração do FDN, as digestibilidades da MS e MO podem ser afetadas (SIMAS et al., 1998). A redução da digestibilidade do FDN pode ter influenciado na redução do consumo e evidencia o efeito negativo que a fonte insaturada exerceu sobre o ambiente ruminal e esse efeito foi crescente com a dose.

O consumo de energia liquida de lactação (ELL) não diferiu entre os tratamentos controle (26,1 Mcal dia^{-1}) comparado a dose de 400g SCOS (26,0 Mcal dia^{-1}), porém ambos foram maiores que o consumo de ELL da dose de 700g de SCOS (25,5 Mcal dia^{-1}). Isso se deve ao fato de apesar da ELL do concentrado ter aumentado com a adição de gordura, houve redução do consumo nos tratamentos com SCOS e a redução da digestibilidade da fibra no tratamento com alta dose de SCOS, o que não permitiu aumento em ingestão de energia. Esse fato é contatado frequentemente com animais recebendo suplementação lipídica, em que por redução no CMS o consumo de energia não é aumentado (WEISS et al., 2011). Em contrapartida, as doses de 400g de SCOP (27,7 Mcal dia^{-1}) e 700g de SCOP (27,6 Mcal dia^{-1}) aumentaram a ingestão de energia em comparação aos demais tratamentos (Tabela 5).

A energia secretada por kg de leite produzido não diferiu entre o controle (0,72 Mcal kg^{-1}) e as doses de 400g de SCOP (0,74 Mcal kg^{-1}) e 700g de SCOP (0,73 Mcal kg^{-1}). Porém, houve redução da energia secretada por kg de leite produzido nos tratamentos com 400g de SCOS (0,67 Mcal kg^{-1}) e 700g de SCOS (0,65 Mcal kg^{-1}), o que está atrelado ao fato de nesses tratamentos o teor de gordura ter sido reduzido, e a gordura é o principal componente energético do leite. (NRC, 2001). Como consequência da redução no conteúdo de gordura associado a menor produção de leite o tratamento com 700g de SCOS apresentou a menor ELL

secretada no leite diariamente (10,3 Mcal dia^{-1}). O controle (12,1 Mcal dia^{-1}) não diferiu do 400g de SCOS (11,4 Mcal dia^{-1}), e a maior ELL secretada no leite foi do tratamento com 400g de SCOP (13,1 Mcal dia^{-1}). Harvatine e Allen (2006) observaram a mesma tendência do tratamento com gordura saturada aumentar a ELL secretada no leite em comparação a fonte insaturada.

Embora o fato da fonte insaturada reduzir a energia secretada no leite, houve maior ganho de peso corporal para as doses de 400g de SCOS (0,56 kg dia^{-1}) e 700g de SCOS (0,65 kg dia^{-1}) comparado a dose de 400g de SCOP (0,44 kg dia^{-1}) e ao controle (0,35 kg dia^{-1}). Em geral as fontes de gordura aumentaram o ganho de peso em comparação ao controle (P= 0,04), e a fonte de SCOS promoveu maior ganho que a fonte de SCOP (P= 0,02), e também a dose de 700g promoveu maior ganho que a dose de 400g (P= 0,05). Esses resultados refletiram na ELL depositada em ganho diariamente que foi maior para a dose de 700g de SCOS (3,03 Mcal dia^{-1}) comparado a dose de 400g de SCOP (2,05 Mcal dia^{-1}) e ao controle (1,63 Mcal dia^{-1}). De acordo com Weiss et al. (2011) os resultados de ganho de peso em experimentos em quadrado latino com períodos de avaliação relativamente curtos devem ser avaliados com cuidado, visto que o período de avaliação e de adaptação muitas vezes podem gerar erros nas estimativas. No entanto, os resultados indicam tendência de partição de energia diferenciada de acordo com a fonte de gordura suplementada.

A eficiência de uso da energia para produção de leite foi maior para as doses de 400g de SCOP (0,47) e 700g SCOP (0,47) e para o controle (0,46) em comparação ao 700g de SCOS (0,41). No entanto não foi observada diferença quanto à eficiência de uso da energia para as funções produtivas (produção + ganho de peso) entre os tratamentos. Esses resultados corroboram os descritos por Harvatine e Allen (2006) em que a eficiência do uso da energia para a produção de leite foi maior para a fonte saturada e a eficiência de produção não diferiu entre os tratamentos. Esses autores também observaram depressão da gordura do leite com a fonte de gordura insaturada e atribuíram que a energia que não foi secretada no leite foi direcionada ao tecido adiposo e armazenado como reserva, visto que a depressão de gordura do leite reduz a síntese de novo de ácidos graxos na glândula mamária e aumenta a disponibilidade de acetato, que pode ser redirecionado para deposição de tecidos. No entanto, esse efeito não é esperado por muito tempo em

função da regulação do consumo, mas explica o maior ganho de peso e uso da energia para ganho em nosso estudo.

Tabela 4 – Consumo e digestibilidade dos nutrientes de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura mantidas em pastagem tropical

		SCOS		SCOP				Contrastes		
	Controle	400 g/dia	700 g/dia	400 g/dia	700 g/dia	EPM	P	Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
CMS (kg)	16,0 ab	15,4 ab	14,9 b	16,3 a	15,9 ab	0,63	0,10	0,38	0,05	0,43
DMS (%)	69,4 b	68,0 b	68,2 b	72,3 a	72,4 a	1,23	0,34	0,17	0,07	0,45
CMO (kg)	14,6 ab	13,7 ab	13,2 b	14,7 a	14,4 ab	0,66	0,09	0,27	0,06	0,55
DMO (%)	71,7 b	71,1 b	70,4 b	73,1 a	72,9 a	1,13	0,25	0,22	0,09	0,48
CPB (kg)	2,47	2,43	2,40	2,51	2,48	0,13	0,24	0,16	0,12	0,41
DPB (%)	71,4	71,2	70,4	72,6	72,2	2,3	0,55	0,4	0,23	0,32
CEE (kg)	0,52	0,77	0,97	0,83	1,10	0,02	0,001	0,001	0,34	0,001
DEE (%)	73,9b	86,9 a	88,5 a	85,9 a	87,9 a	3,20	0,002	0,002	0,61	0,37
CFDN (kg)	5,1 a	4,5 b	4,1 b	5,0 a	4,8 ab	0,30	0,32	0,22	0,10	0,23
DFDN (%)	58,8 a	55,4 b	52,2 c	58,4 a	56,8 ab	1,20	0,10	0,23	0,05	0,10

CMS: Consumo de máteria seca; DMS: Digestibildade da matéria seca; CMO: consumo de matéria orgânica; DMO: Digestibilidade da matéria orgânica; CPB: consumo de proteína bruta; DPB digestibilidade da proteína bruta; CEE: consumo de extrato etéreo; DEE: Digestibilidade do extrato etéreo; CFDN: consumo de FDN; e DFDN: digestibilidade da FDN.

Tabela 5 – Consumo de energia liquida de lactação (ELL), secreção de energia e balanço energético de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura mantidas em pastagem tropical

		SCOS		SCOP				Contrastes		
	Controle	400 g/dia	700 g/dia	400 g/dia	700 g/dia	EPM	P	Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
Consumo de ELL (Mcal dia^{-1})	26,1 b	26,0 b	25,4 c	27,7 a	27,6 a	0,38	0,04	0,05	0,001	0,67
ELL secretada no leite (Mcal kg^{-1})	0,72 a	0,67 b	0,65 b	0,74 a	0,73 a	0,07	0,03	0,08	0,001	0,68
ELL secretada no leite (Mcal dia^{-1})	12,1 b	11,4 b	10,3 c	13,1 a	12,8 ab	0,38	0,04	0,12	0,01	0,10
Ganho de peso (kg dia^{-1})	0,35 c	0,56 a	0,65 a	0,44 b	0,49 ab	0,08	0,05	0,04	0,02	0,05
Ganho de peso vazio (kg dia^{-1})	0,29 c	0,46 a	0,53 a	0,36 b	0,40 ab	0,06	0,05	0,04	0,02	0,05
ELL no ganho (Mcal dia^{-1})	1,63 c	2,61 ab	3,03 a	2,05 b	2,28 b	0,29	0,06	0,03	0,04	0,48
ELL para mantença (Mcal dia^{-1})	12,4	11,9	12,1	12,5	12,4	0,56	0,18	0,28	0,24	0,39
ELL leite/ELL consumida	0,46 a	0,44 ab	0,41 b	0,47 a	0,47 a	0,03	0,04	0,15	0,02	0,45
ELL produção/ consumida	0,53	0,54	0,53	0,55	0,55	0,05	0,21	0,52	0,64	0,78

Os dados de comportamento animal seguiram a mesma tendência observada nos resultados de consumo (Tabela 6). O tempo despendido na atividade de pastejo foi influenciado pelas fontes de gordura (P= 0,05). Os animais do tratamento 700g SCOS pastejaram menos tempo (289 min. dia^{-1}) comparado com animais recebendo ambas as doses de SCOP (327 e 323 min. dia^{-1}). Não houve diferença para o tempo de ruminação e outros entre os tratamentos experimentais. Além disso, o tempo de concentrado foi fixo entre todos os tratamentos e períodos. Houve maior tempo em ócio para os animais recebendo 700g de SCOS (560 min. dia^{-1}) em comparação com as doses de 400 e 700g de SCOP (500 e 515 min. dia^{-1}). Os tratamentos controle e 400g de SCOS não diferiram dos demais tanto para o tempo em ócio quanto para o tempo em pastejo.

O pH ruminal não foi afetado pelos tratamentos experimentais (Tabela 7) e a variação do pH ao longo do dia foi constante entre os tratamentos (Figura 1). O pH foi mensurado durante 24h, sendo o tempo 0 equivalente ao horário previamente ao fornecimento matinal do concentrado. Pode-se observar que em torno de uma hora após o fornecimento do concentrado o pH reduziu de forma semelhante em todos os tratamentos e aumentou após 8h, sendo novamente reduzido após a 2º parcela de concentrado (por volta de 11h após o fornecimento matinal do concentrado).

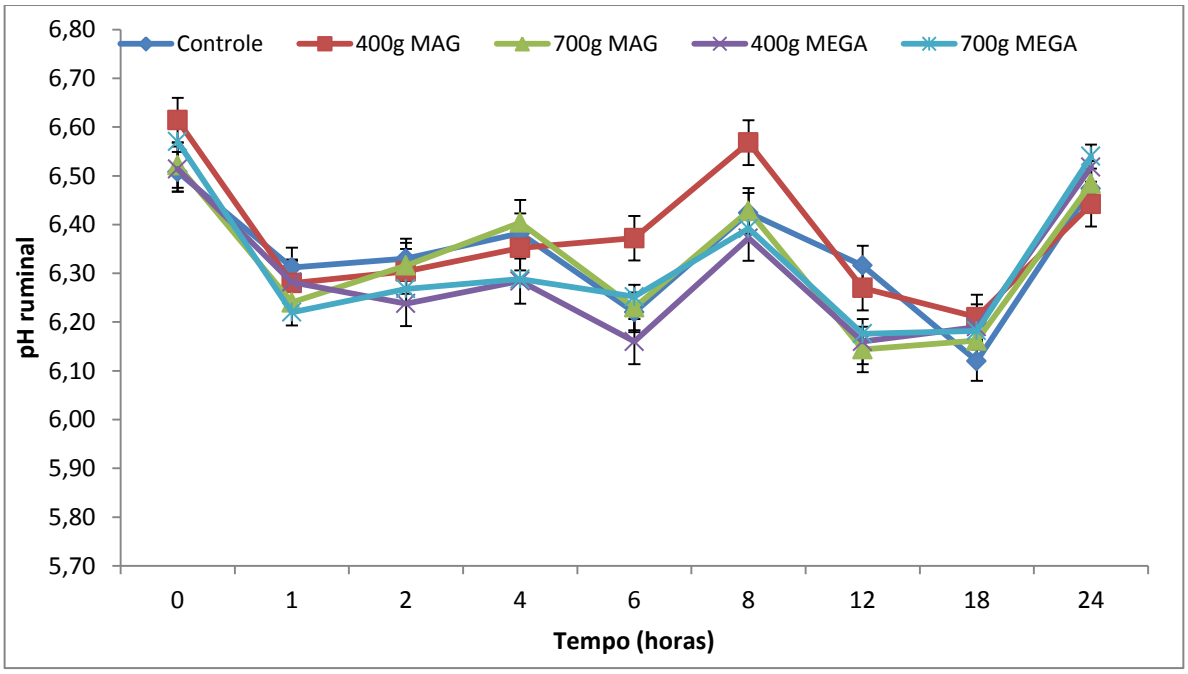

Figura 1 – Variação ao longo do dia do pH ruminal em função dos tratamentos experimentais

O pH ruminal geralmente não é afetado quando a suplementação de gordura é feita (SCHROEDER et al., 2004). Apesar da adição de gordura ter sido feita em detrimento ao milho, fonte de amido da dieta, o que poderia alterar o pH, em função do alto nível de fibra na dieta pelo consumo de pasto não houve alteração do pH. Outro fato interessante relacionado ao pH ruminal foi apesar da variação do pH ao longo do dia, não houve decréscimo do pH abaixo de 6,0 em nenhum dos períodos experimentais, sendo que na maior parte do dia o pH ficou em torno de 6,2 a 6,4. O pH ruminal não reduziu abaixo de 6,0, o que de acordo com os achados de Sukija e Palmquist (1990) sugerem dissociação dos SCOS em torno de 55%. Entretanto, em função da drástica redução no teor e produção de gordura do leite dos tratamentos com SCOS pode-se inferir que a proteção pode ter sido menos efetiva ainda e que grande parte do SCOS se dissociou no rúmen.

A produção dos ácidos graxos voláteis no rúmen foi afetada pelo fornecimento de gordura (Tabela 7). A produção de acetato (C2) no grupo controle não diferiu dos demais tratamentos (P= 0,79), porém o acetato foi influenciado pela fonte de gordura (P= 0,01) em que os maiores valores ocorreram no SCOP, e influenciado pela dose (P= 0,03) no qual a maior dose de gordura reduziu a concentração de acetato. A maior quantidade de acetato ocorreu no tratamento com 400g de SCOP (70,4 mmol ml^{-1}) e foi maior que ambas as doses de 400 e 700g de SCOS (67,5 e 65,9 mmol ml^{-1}, respectivamente). A concentração ruminal de propionato (C3) e a relação acetato:propionato (C2/C3) não foram afetados pelos tratamentos. O conteúdo butirato (C4) do controle não diferiu dos outros tratamentos (P= 0,64) e não foi influenciado pela dose de gordura (P= 0,46), entretanto foi influenciado pela fonte de gordura (P= 0,01). . A maior quantidade de butirato ocorreu no tratamento com 400g de SCOP (13,1 mmol ml^{-1}) e foi maior que ambas as doses de 400 e 700g de SCOS (12,7 e 12,0 mmol ml^{-1}, respectivamente). De forma semelhante, a concentração de valerato (C5) não diferiu entre o controle e os demais tratamentos (P= 0,36) e não foi influenciada pela dose de gordura (P= 0,21). No entanto, a fonte afetou a concentração de C5 (P= 0,05), em que ambas as doses de SCOS apresentaram menores valores que as doses de SCOP. A concentração de isobutirato (IC4) foi menor no tratamento com 700g de SCOS (0,98 mmol ml^{-1}) em comparação a todos os demais tratamentos. Ainda a quantidade de IC4 foi maior no 400g de SCOP (1,15 mmol ml^{-1}) em comparação ao controle (1,04 mmol ml^{-1}) e ao 400g de SCOS (1,06 mmol ml^{-1}). A quantidade de isovalerato (IC5) não diferiu entre o controle (1,98 mmol

ml^{-1}) comparado ao 400g de SCOP (1,94 mmol ml^{-1}) e ambos foram superiores ao 700g SCOP (1,84 mmol ml^{-1}), ao 400g SCOS (1,81 mmol ml^{-1}) e ao 700g SCOS (1,85 mmol ml^{-1}). A produção total de ácidos graxos voláteis (AGV) não diferiu entre o controle e as gorduras (P= 0,19), mas houve efeito da fonte (P= 0,01) em que houve menor produção total de AGV com o SCOS em comparação ao SCOP, e também uma tendência (P= 0,06) de redução da produção de AGV com a maior dose de gordura.

A quantidade nitrogênio amoniacal ruminal (NH_3 N) não foi influenciada pelos tratamentos experimentais. Porém, a síntese de proteína microbiana (Pmic) foi influenciada pela fonte de gordura (P= 0,03) e houve tendência da dose de gordura (P= 0,06) também afetar a Pmic. A maior síntese de Pmic foi observada nos tratamentos controle (1407,1 g dia^{-1}) e 400g de SCOP (1378,4 g dia^{-1}) em comparação ao tratamento com 700g de SCOS (1185,6 g dia^{-1}). Os tratamentos com 400g de SCOS e 700g de SCOP apresentaram produção microbiana intermediária.

Os resultados dos ácidos graxos voláteis indicam que a fonte insaturada (SCOS) reduziu a produção de AGV's totais, em função da redução na concentração de acetato, butirato, isobutirato, valerato e isovalerato. Esses resultados corroboram os encontrados por Bateman e Jenkins (1998) em que a suplementação com óleo de soja para vacas reduziu a produção de acetato linearmente. Esses resultados são atribuídos principalmente a redução na digestibilidade da fibra, que produz grande parte de acetato durante sua fermentação. Além disso, Boken et al. (2005) também observaram redução da quantidade de acetato, butirato, isobutirato e isovalerato em vacas em pastejo suplementadas com óleo de soja. O isobutirato e o valerato são fatores de crescimento para vários microrganismos celulolíticos que usam esses isoácidos para seu crescimento na síntese de ácidos graxos ou até mesmo aminoácidos (VAN SOEST, 1994). Portanto, a redução na disponibilidade desses precursores pode explicar a redução na síntese microbiana (Pmic) observada em nosso trabalho com a suplementação de SCOS. Em nosso estudo a suplementação com SCOS reduziu a digestibilidade da fibra, reduziu a produção total de AGV's, em especial o acetato, e afetou negativamente o crescimento microbiano.

Tabela 6 – Comportamento animal de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura mantidas em pastagem tropical

Atividade (minutos)	Controle	SCOS		SCOP		EPM	P	Contrastes		
		400 g/dia	700 g/dia	400 g/dia	700 g/dia			Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
Pastejo	303 ab	297 ab	289 b	327 a	323 a	12,4	0,08	0,24	0,05	0,78
Ruminando	300	307	287	317	308	15,4	0,34	0,36	0,16	0,76
Ócio	525 ab	530 ab	560 a	500 b	515 b	16,2	0,09	0,32	0,03	0,85
Concentrado	30	30	30	30	30	-	-	-	-	-
Outros	282	276	274	266	264	14,2	0,45	0,18	0,23	0,54

Tabela 7 – pH ruminal, ácidos graxos voláteis, N NH_3 e síntese de proteína microbiana (Pmic) de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura mantidas em pastagem tropical

		SCOS		SCOP		EPM	P	Contrastes		
	Controle	400 g/d	700 g/d	400 g/d	700 g/d			Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
pH	6,34	6,38	6,33	6,30	6,32	0,1	0,66	0,86	0,76	0,44
C2 mmol/mL	68,2 ab	67,5 b	65,9 b	70,4 a	67,9 ab	1,5	0,02	0,79	0,01	0,03
C3 mmol/mL	19,8	19,8	19,2	20,5	19,9	0,9	0,23	0,99	0,07	0,12
C4 mmol/mL	12,7 ab	12,0 b	12,6 b	13,1 a	12,8 ab	0,4	0,05	0,64	0,01	0,46
IC4 mmol/mL	1,04 b	1,06 b	0,98 c	1,15 a	1,08 ab	0,03	0,14	0,10	0,04	0,31
C5 Mmol/mL	1,12 ab	1,04 b	1,06 b	1,20 a	1,16 a	0,06	0,20	0,36	0,05	0,21
IC5 mmol/mL	1,98 a	1,81 b	1,85 b	1,94 a	1,94 a	0,09	0,002	0,003	0,02	0,12
Total	106,7 a	103,6 b	101,6 b	108,1 a	106,1 a	1,2	0,04	0,19	0,01	0,06
C2/C3	3,43	3,41	3,42	3,43	3,41	0,1	0,82	0,37	0,9	0,86
NH3 N (mg/dL)	10,0	10,4	11,1	10,4	10,6	1,2	0,55	0,65	0,99	0,94
Pmic (g/dia)	1407,1 a	1349,4 ab	1185,6 b	1378,4 a	1246,8 ab	122	0,23	0,18	0,03	0,06

O consumo de N não foi afetado pelos tratamentos experimentais (Tabela 8) e seguiu a mesma tendência do consumo de PB. O N secretado no leite não diferiu entre o controle e os demais tratamentos (P= 0,67) e também não houve efeito de dose (P= 0,23), porém houve efeito de fonte de gordura (P= 0,05). A maior quantidade de N secretado no leite foi observada nas duas doses de 400g e 700g de SCOP (95 e 94,1g dia-1, respectivamente) comparado com a dose de 700g de SCOS (83,8g dia^{-1}). Esses resultados estão associados a maior produção de leite que permitiu aumentar a produção de proteína. A eficiência do uso do N (EUN) não foi diferente entre os 400g de SCOS (23,4%), 400g de SCOP (23,7) e 700g de SCOP (23,7%) e todos foram maiores que a EUN do tratamento com 700g de SCOS (21,5%). A EUN do tratamento controle não diferiu dos demais tratamentos. O N excretado nas fezes, o N excretado na urina, o total de N excretado e o total de N excretado em % do consumido não foram afetados pelos tratamentos. Em geral, a suplementação com gordura afeta muito pouco a EUN e a excreção de N (SCHROEDER et al., 2004).

Dentre as variáveis sanguíneas (Tabela 9) o teor de glicose não houve diferença entre o controle e gordura (P= 0,39) e não houve efeito de dose de gordura (P= 0,89). O teor de N ureico plasmático não foi afetado por nenhum dos tratamentos experimentais. A concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma não foi influenciada pela fonte ou dose de gordura, porém houve uma tendência (P= 0,10) de o controle apresentar maior concentração de AGNE comparado com os tratamentos recebendo gordura. Esses resultados confirmam os resultados de ganho de peso diário, visto que o tratamento controle apresentou o menor ganho de peso.

Tabela 8 – Consumo de N, N excretado no leite, eficiência de uso do N, N excretado nas fezes e urina de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura mantidas em pastagem tropical

		SCOS		SCOP				Contrastes		
	Controle	400 g/dia	700 g/dia	400 g/dia	700 g/dia	EPM	P	Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
Consumo de N (g/dia)	395,2	388,8	384,0	401,6	396,8	21,6	0,34	0,16	0,14	0,41
N leite (g/dia)	89,4 ab	91 ab	83,8 b	95 a	94,1 a	5,37	0,18	0,67	0,05	0,23
EUN (%)	22,6 ab	23,4 a	21,5 b	23,7 a	23,7 a	0,79	0,28	0,17	0,13	0,36
N fezes (g/dia)	120,3	111,8	112,8	105,8	112,9	11,5	0,66	0,21	0,89	0,89
N urina (g/dia)	155,4	147,5	154	146,2	154,4	5,2	0,34	0,15	0,43	0,41
N excretado (g/dia)	275,7	259,3	266,8	252	267,3	15,9	0,51	0,16	0,68	0,73
N excretado (% Cons.)	69,8	66,7	69,50	62,7	67,4	4,61	0,60	0,86	0,31	0,20

Tabela 9 – Glicose, N ureico e ácidos graxos não esterificados (AGNE) de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura mantidas em pastagem tropical

		SCOS		SCOP				Contrastes		
	Controle	400 g/dia	700 g/dia	400 g/dia	700 g/dia	EPM	P	Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
Glicose (mg dL)	60,9	59,7	62,0	70,1	69,1	9,7	0,35	0,39	0,12	0,89
N ureico (mg dL)	16,1	14,9	23,4	14,9	18,1	6,8	0,7	0,74	0,59	0,24
AGNE (mmol L)	0,25	0,13	0,18	0,12	0,17	0,07	0,34	0,1	0,69	0,85

Na tabela 10 é apresentado o perfil de ácidos graxos dos alimentos, forragem e fontes de gordura utilizada. Com relação ao capim-elefante, o acido graxo mais representativo foi o ácido linolênico (C18:3 cis-9 cis-12 cis-15). O milho e o farelo de soja apresentaram como ácido graxo principal o ácido linoleico (C18:2 cis-9 cis-12). Com relação às fontes de gordura, a fonte de SCOS apresentou como ácidos graxos principais o linoleico e o palmítico (C16:0), enquanto que o SCOP apresentou em sua composição o ácido palmítico e o oleico (C18:1 cis-9) como principais. Assim, o perfil de ácidos graxos esteve dentro do proposto, com a suplementação de duas fontes de gordura, uma composta pela maioria de ácidos graxos insaturados (SCOS) e outra por ácidos graxos saturados (SCOP).

Tabela 10 – Perfil de ácidos graxos dos alimentos e fontes de gordura utilizadas

g/100g de gordura	**Capim elefante**	**Milho**	**Farelo de soja**	**SCOS**	**SCOP**
C4:0	-	0,02	-	-	-
C6:0	-	0,02	-	-	0,014
C8:0	-	0,02	-	-	0,033
C10:0	-	0,01	-	-	0,020
C12:0	0,35	0,11	0,04	0,98	0,195
C14:0	0,31	0,05	0,25	0,62	1,19
C16:0	18,7	-	20,2	16,8	47,57
C18:0	2,5	-	4,62	4,76	4,40
C18:1 cis-9	1,72	0,98	12,84	21,4	35,3
C18:1 cis-11	0,32	0,34	1,81	2,13	-
C18:1 cis-12	0,21	0,03	1,18	0,95	-
C18:1 trans-10	-	-	0,12	0,67	0,26
C18:1 trans-11	0,01	-	0,18	2,3	0,0195
C18:1 trans-12	-	-	0,07	0,85	-
C18:2 cis-9 cis-12	12,3	48,2	51,4	48,4	0,055
C20:0	0,21	1,27	0,26	0,02	0,330
C18:3 cis-9 cis-12 cis-15	53,8	-	6,43	3,2	0,254
C22:0	0,63	-	0,34	0,21	0,056

Com relação ao perfil de ácidos graxos do leite (Tabela 11), houve redução dos ácidos graxos de cadeia curta e média (C6:0, C8:0, C10:0, C12:0 e C14:0) com a suplementação de gordura em comparação ao controle. Além disso, a maior redução desses ácidos graxos foi relatada no tratamento com 700g SCOS. Houve aumento do acido esteárico (C18:0) e dos ácidos graxos trans monoinsaturados (C18:1 trans-6, 7, 8 e 9, C18:1 trans 10, C18:1 trans 11 e C18:1 trans 12) no leite com o fornecimento de ambas as doses de SCOS. Além disso, houve acréscimo da concentração de ácido linoleico e de CLA (cis-9 trans-11 e trans-10 cis-12) no leite para ambas as doses de SCOS em comparação aos demais tratamentos. Ambas as doses de SCOS reduziram a quantidade de ácidos graxos provenientes da síntese de novo (<C16) e aumentaram a quantidade de ácidos graxos no leite proveniente da dieta (> C16). Esses resultados são comuns em situações de depressão de gordura do leite (BAUMAN et al., 2011). Altas concentrações de ácidos graxos livres insaturados e poli-insaturados no ambiente ruminal podem resultar em um processo incompleto de bio-hidrogenação, sendo que o produto final passa a ser um de seus intermediários, como CLA (cis-9 trans-11) e o ácido vaccênico (C18:1 trans-11), acumulando-os no rúmen. Além disso, a redução do pH ruminal, associado à alta concentração de ácidos graxos insaturados, levam a formação de intermediários trans-10 ao invés de trans-11 (JENKINS et al., 2008; CHILLIARD et al., 2007). Alguns ácidos graxos trans, intermediários da bio-hidrogenação, que seguem adiante no trato gastrintestinal 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., 2002). A ação do CLA trans-10 cis-12 que resultam na queda da gordura, ocorre em função de uma diminuição da expressão de enzimas lipogênicas importantes como a Acetil-CoA Carboxilase (ACC), Ácido Graxo Sintetase (AGS), Estearoil-CoA Dessaturase (ECD) e Lipoproteína Lipase (LPL) (PIPEROVA et al., 2000; BAUMGARD et al., 2002) que sintetizam ácidos graxos de cadeia curta e média na glândula mamária. Dessa forma, esse mecanismo explica o aumento na concentração de ácidos graxos trans e insaturados no leite e a redução dos ácidos graxos de

cadeia curta e média com a suplementação com a suplementação com ambas as doses de SCOS.

A suplementação com ambas as doses de SCOP também reduziu os ácidos graxos de cadeia curta e média. A quantidade de acido palmítico (C16:0) aumentou com o fornecimento de 700g SCOP. Além disso, houve diferença no somatório de ácidos graxos < C:16, em que o fornecimento de 700g SCOP reduziu a participação desse grupo de ácidos graxos no leite. Em contrapartida a suplementação com SCOP aumentou os ácidos graxos C16:0 + C16:1 cis-9 no leite, e a quantidade de ácidos graxos provenientes da dieta. A concentração de ácidos graxos poli-insaturados foi menor com ambas as doses de SCOP comparado aos demais tratamentos. Essa redução nos ácidos graxos de cadeia curta e média e aumento do ácido palmítico no leite já foi relatado na literatura quando da suplementação de ácido palmítico purificado (LOCK et al., 2013; PIANTONI et al., 2013). De acordo com esses autores, a incorporação de ácido palmítico no leite aumenta com a sua suplementação e ocorre redução dos ácidos graxos de cadeia curta e média no leite, em função da regulação que a glândula mamaria possui para manter a fluidez do leite.

Tabela 11 – Perfil de ácidos graxos do leite, ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI) de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura (continua)

g/100g de gordura	Controle	SCOS		SCOP		EPM	P	Contrastes		
		400g	700g	400g	700g			Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
C4:0	2,78	2,81	2,72	2,73	2,83	0,15	0,96	0,91	0,92	0,94
C6:0	1,56 a	1,33 b	1,17 c	1,45 a	1,29 b	0,13	0,01	0,003	0,09	0,02
C8:0	1,04 a	0,79 b	0,67 c	0,85 b	0,75 b	0,09	0,002	0,0002	0,14	0,02
C10:0	1,75 a	1,39 ab	1,27 ab	1,51 a	1,13 b	0,25	0,10	0,02	0,89	0,14
C12:0	2,36 a	1,76 b	1,36 c	1,79 b	1,45 b	0,26	0,01	0,001	0,71	0,04
C14:0	8,89 a	7,77 b	7,33 bc	7,99 b	7,06 c	0,75	0,001	0,0002	0,91	0,01
C14:1 cis-9	0,64	0,45	0,43	0,59	0,48	0,14	0,61	0,25	0,41	0,54
C16:0	26,8 b	26,3 b	23,3 c	28,1 b	35,1 a	1,84	0,008	0,47	0,001	0,16
C16:1 cis-9	0,77 ab	0,79 ab	0,64 b	1,01 a	1,19 a	0,11	0,05	0,30	0,001	0,91
C18:0	14,4 ab	15,1 a	16,6 a	12,8 c	10,1 d	0,95	0,001	0,31	0,002	0,09
C18:1 trans-6, 7, 8 e 9	1,05 b	1,46 a	1,69 a	0,79 b	0,67 c	0,19	0,009	0,64	0,0006	0,51
C18:1 trans-10	0,57 b	0,81 a	0,79 a	0,58 b	0,58 b	0,08	0,05	0,18	0,01	0,88

Tabela 11 – Perfil de ácidos graxos do leite, ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI) de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura

(continuação)

g/100g de gordura	Controle	SCOS		SCOP		EPM	P	Contrastes		
		400g	700g	400g	700g			Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400g vs. 700g
C18:1 trans-11	1,15 b	1,63 a	1,58 a	1,16 b	1,15 b	0,17	0,11	0,22	0,01	0,88
C18:1 trans-12	0,56 b	0,79 a	0,77 a	0,56 b	0,57 b	0,08	0,11	0,23	0,02	0,84
C18:1 cis-9	21,8 b	23,2 a	23,8 a	24,1 a	23,7 a	0,85	0,24	0,03	0,61	0,91
C18:1 cis-11	1,99 ab	1,82 b	2,09 ab	2,18 a	1,98 ab	0,18	0,27	0,74	0,27	0,93
C18:1 cis-12	0,89 ab	0,79 b	0,88 ab	1,04 a	0,84 ab	0,08	0,11	0,94	0,14	0,46
C18:2 cis-9 cis-12	2,52 b	2,89 a	3,22 a	2,21 b	2,43 b	0,30	0,05	0,51	0,01	0,28
C20:0	0,19 a	0,13 b	0,14 b	0,12 b	0,10 b	0,02	0,12	0,02	0,28	0,82
C18:3 cis-9 cis-12 cis-15	0,43 ab	0,47 a	0,41 ab	0,37 ab	0,34 b	0,04	0,31	0,57	0,10	0,35
CLA cis-9 trans-11	0,64 b	1,02 a	1,13 a	0,85 ab	0,86 ab	0,12	0,12	0,05	0,15	0,66
CLA trans-10 cis-12	0,025 c	0,082 b	0,11 a	0,027 c	0,019 c	0,01	0,01	0,15	0,005	0,09
C22:0	0,051 a	0,026 b	0,022 b	0,021 b	0,015 b	0,0088	0,06	0,009	0,41	0,51
C20:4 n-6	0,078	0,075	0,08	0,086	0,068	0,011	0,43	0,95	0,96	0,41

Tabela 11 – Perfil de ácidos graxos do leite, ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI) de vacas suplementadas com fontes e doses de gordura

(conclusão)

g/100g de gordura	Controle	SCOS		SCOP		EPM	P	Contrastes		
		400g	700g	400g	700g			Controle vs. Gordura	SCOS vs. SCOP	400 g vs. 700 g
Soma <C16	21,7 a	18,6 ab	17,4 b	20,1 a	17,5 b	1,69	0,04	0,009	0,43	0,08
Soma C16+C16:1	28,2 b	27,5 b	24,5 c	29,6 b	36,7 a	1,87	0,008	0,48	0,003	0,27
Soma > C16	50,1	53,9	57,2	50,3	45,8	2,62	0,007	0,25	0,001	0,85
Soma saturados	64,2 a	60,1 b	59,0 b	61,9 a	63,6 a	1,83	0,07	0,03	0,04	0,87
Soma de monoinsaturados	31,4 b	34,1 a	35,4 a	33,8 a	31,8 b	1,61	0,04	0,02	0,06	0,81
soma de poliinsaturados	4,4 b	5,8 a	5,6 a	4,3 b	4,6 b	0,32	0,07	0,07	0,0008	0,51

6.4 Conclusão

A suplementação com gordura melhorou a produção de leite e a fonte de sais de cálcio de óleo de palma permitiu a maior produção de leite, sem afetar a composição do leite e os parâmetros ruminais. No entanto, a suplementação com sais de cálcio de óleo de soja deprimiu a gordura do leite e afetou negativamente os parâmetros ruminais e a digestibilidade da fibra. Porém, houve diferença na partição de energia permitindo maior ganho de peso. Ambas as fontes de gordura alteraram o perfil de ácidos graxos do leite. A dose de gordura afetou os resultados com a suplementação de sais de cálcio de óleo de soja, em que a maior dose deprimiu gordura do leite, consumo, digestibilidade e alterou a produção de AGV's e o perfil de ácidos graxos quando comparado a menor dose.

Referências

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.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 12nd ed. Washington, 1990. 1094 p.

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.

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

BAUMAN, D.E.; HARVATINE, K.J.; LOCK, A.L. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, Gainesville, v. 31, p. 299-319, 2011.

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.

BRADFORD, B.J.; HARVATINE, K.J. ALLEN, M.S. Dietary unsaturated fatty acids increase plasma glucagon-like peptide-1 and cholecystokinin and may decrease premeal ghrelin in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 1443-1450, 2008.

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.; REYNAL, S.M. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champign, v. 92, p. 2822-2834, 2009.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; LANA, R.P. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 130-138, 2008.

CHAGAS, L.J. **Teor de proteína no concentrado de vacas de vacas no terço inicial de lactação, mantidas em pasto de capim elefante**. 2011. 74 p. 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, v. 8, p. 130-132, 1962.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives:** an overview of technical details. Buckburnd: Roweet Research Institute, 1992. 21 p.

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CHIZZOTTI, F.H.M.; TEDESCHI, L.O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science,** Madison, v. 113, p. 218-225, 2008.

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

DePETERS, E.J.; CANT, J.P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 75, p. 2043-2070, 1992.

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.

FONSECA, L.; MEZZALIRA, J.C.; BREMM, C.; FILHO verificar o sobrenome, R.S.A.; GONDA, H. L.; CARVALHO, P.C.F. Management targets for maximizing the short-term herbage intake rate of cattle grazing in sorghum bicolor. **Livestock Science,** Amsterdam, v. 145, p. 205–211, 2012.

GOMIDE, J.A.; WENDLING, I.J.; BRAS, S.P.; QUADROS, H.B. Consumo e produção de leite de vacas mestiças em pastagem de *Brachiaria decumbens* manejada sob duas ofertas diárias de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 30, p. 1194-1199, 2001.

GONZALEZ-RONQUILLO, 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.

HARA, A.; RADIN, N.S. Lipid extraction of tissues with low toxicity solvent. **Analitics Biochemistry**, Champaign, v. 90, p. 420–426, 1978.

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.

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

JENKINS, T.C.; WALLACE, R.J.; MOATE, P.J.; MOSLEY, E.E. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 397-412, 2008.

LOCK, A.L.; PRESEAULT, C.L.; RICO, J.E.; DELAND, K.E.; ALLEN, M.S. Feeding a C16:0-enriched fat supplement increased the yield of milk fat and improved conversion of feed to milk. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 96, p. 6650-6659, 2013.

MACEDO, F.L. **Doses de concentrado com ou sem gordura inerte na dieta de vacas em lactação mantidas em pastagens tropicais.** 2012. 121 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V.; HESS, B.W. Technical note: a procedure for preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, Montana, v. 82, p. 179-193, 2004.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.

NENNICH, T.D.; HARRISON, J.H.; Van WIERRINGEN, L.M.; St-PIERRE, N.R.; KINCAID, R.L.; WATTIAUX, M.A.; DAVIDSON, D.L.; BLOCK, E. Prediction and evaluation of urine and urinary nitrogen and mineral excretion from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 353-364, 2006.

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

RABIEE, A.R.; BREINHILD, K.; SCOTT, W.; GOLDER, H.M.; BLOCK, E.; LEAN, I.J. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: a meta-analysis and meta-regression. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 95, p. 3225-3247, 2012.

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.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: users guide. Version 9.0. ed. Cary, 2002.

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.; GAGLIOSTRO, G.A.; BARGO, F.; DELAHOY, J.E.; MULLER, L.D. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. **Livestock Production Science,** Amsterdam, v. 86, p. 1-18, 2004.

SIMAS, J.M.; HUBER, J.T.; THEURER, C.B.; CHEN, K.H.; SANTOS, F.A.P.; WU, Z. Influence of sorghum grain processing on performance and nutrient digestibilities in dairy cows fed varying concentrations of fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 1966–1971, 1998.

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.

_____. 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.

SWEENEY, R.A. Generic combustion method for determination of crude protein in feeds. **Journal of Official Analytical Chemists**, San Diego, v. 72, p. 770-774, 1989.

Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 456 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.

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.

VOLTOLINI, T.V.; SANTOS, 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.

WEISS, W.P.; PINOS-RODRIGUEZ, J.M.; WYATT, D.J. The value of different fat supplements as sources of digestible energy for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 931-939, 2011.

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

ZINN, R.A.; OWENS, F.N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. **Canadian Journal of Animal Science,** Ottawa, v. 66, p. 157-166, 1986.