

RICARDO MAROSTEGAN DE PAULA

**MUDANÇAS NUTRICIONAIS E METABÓLICAS EM VACAS NO INÍCIO DA  
LACTAÇÃO SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE SOJA UTILIZANDO CANA-  
DE-AÇÚCAR COMO VOLUMOSO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P324m  
2016 Paula, Ricardo Marostegan de, 1988-  
Mudanças nutricionais e metabólicas em vacas no início da lactação suplementadas com óleo de soja utilizando cana-de-açúcar como volumoso / Ricardo Marostegan de Paula. – Viçosa, MG, 2016.  
vii, 29f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Luciana Navajas Rennó.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Bovino de leite - Alimentação e rações. 2. Vacas leiteiras. 3. Soja como ração. 4. Cana-de-açúcar como ração. 5. Proteínas na nutrição animal. I. Universidade Federal de Viçosa. Zootecnia. Programa de Pós-graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22 ed. 636.21085

RICARDO MAROSTEGAN DE PAULA

**MUDANÇAS NUTRICIONAIS E METABÓLICAS EM VACAS NO INÍCIO DA  
LACTAÇÃO SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE SOJA UTILIZANDO CANA-  
DE-AÇÚCAR COMO VOLUMOSO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de julho de 2016.

---

Marcos Inácio Marcondes  
(Coorientador)

---

Shirley Motta de Souza

---

Edenio Detmann

---

Luciana Navajas Rennó  
(Orientadora)

[Digite texto]

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, e a toda minha família, em especial aos meus pais José Assunção e Aparecida Fatima, meus irmãos Ana Flavia e Eduardo e a minha namorada Marília pelo incentivo que me proporcionaram.

Deus é o dono de tudo. Devo a Ele a oportunidade que tive de chegar aonde cheguei.  
Muitas pessoas têm essa capacidade, mas não têm essa oportunidade. Ele a deu pra mim, não sei por quê. Sei que não posso desperdiçá-la.

Ayrton Senna.

## AGRADECIMENTOS

Ao conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do estudo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

A Deus e Nossa Senhora Aparecida por guiar meu caminho, dar força e sabedoria pra eu enfrentar os meus desafios.

Aos meus pais pelo exemplo, apoio e motivação permitindo com que eu possa alcançar meus objetivos.

Aos meus irmão pelo carinho e exemplo sempre me motivando a buscar o melhor para minha vida.

A Marília Gaspar minha namorada pela compreensão, motivação sempre presente nos momentos mais difíceis.

A Universidade federal de Viçosa e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de crescimento profissional.

A professora Luciana Navajas Rennó pela amizade, carinho, orientação, ensinamentos e pelo total apoio em buscar nova oportunidade profissional.

Ao professor Marcos Marcondes por ajudar enriquecer esse trabalho.

A todos os professores do Departamento de Zootecnia, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao João Paulo Pacheco Rodrigues pela amizade e companheirismo na condução do experimento, análises laboratoriais e desenvolvimento dessa dissertação.

Ao Alex Lopes pelas ajudas nas coletas, nas análises laboratoriais e pelas dicas no desenvolvimento dessa dissertação.

Aos estagiários e funcionários do UEPE-GL, pela ajuda na condução do experimento a campo e das análises laboratoriais, sem vocês não seria possível a conquista desse objetivo.

Aos meus amigos de república pela amizade e ensinamentos nesses anos de Viçosa.

Enfim a todos aqueles, que de certa forma, me ajudaram a alcançar esse objetivo.

## **BIOGRAFIA**

Ricardo Marostegan de Paula, filho de José Assunção de Paula e Aparecida Fatima Marostegan de Paula, nasceu em Campinas, São Paulo, em 29 de outubro de 1988.

Em março de 2007, ingressou na Universidade Federal de Viçosa, no curso de Zootecnia, colando grau em Fevereiro de 2013.

Entre Agosto de 2013 ingressou na Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, desenvolvendo estudos na área de Nutrição de Ruminantes.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
Introdução .....	1
Material e Métodos .....	2
Manejo Animal, delineamento experimental e dietas .....	2
Procedimentos de amostragem .....	3
Análises Laboratoriais .....	5
Cálculos .....	7
Análise estatística .....	8
Resultados.....	9
Consumo e digestibilidade.....	9
Balanço de nitrogênio e síntese microbiana .....	10
Produção e composição do leite .....	11
Parâmetros sanguíneos .....	11
Discussão .....	12
Conclusão .....	15
Referências Bibliográficas.....	16
Tabelas.....	20
Figuras .....	27

## RESUMO

PAULA, Ricardo Marostegan, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Mudanças nutricionais e metabólicas em vacas no início de lactação suplementadas com de óleo de soja utilizando cana de açúcar como volumoso.** Orientadora: Luciana Navajas Rennó. Coorientadores: Marcos Inácio Marcondes e Sebastião de Campos Valadares Filho.

A inclusão de óleo de soja (OS) em dietas a base de cana-de-açúcar para vacas no início de lactação pode ser uma alternativa para aumentar o consumo de energia, reduzir o balanço de energia e consequentemente aumentar a produção de leite. Nosso objetivo foi avaliar a produção de leite, respostas nutricionais e metabólicas de vacas no início de lactação, alimentadas com cana-de-açúcar com diferentes níveis de OS. Vinte e duas vacas holandesas foram divididas em dois blocos, sendo quatorze primíparas ( $545 \pm 17,2$  kg de peso corporal) e oito múltíparas ( $629 \pm 26,7$  kg de peso corporal). O período experimental foi de 84 dias divididos em 3 períodos de 28 dias. As dietas foram formuladas adicionando OS para obter quatro níveis de extrato etéreo (EE) na matéria seca (MS): dieta basal (B; sem adição de OS), baixo nível de óleo (BN; 40g de EE/ kg de MS), médio nível de óleo (MN; 70g de EE/ kg de MS) e alto nível de óleo (AN; 100g de EE/ kg de MS). O aumento dos níveis de OS teve efeito quadrático no consumo de matéria seca (CMS) e no consumo de energia metabolizável (CEM), sendo que o maior CMS e CEM (19 kg/d e 227 Mj/d, respectivamente) ocorreram no tratamento BN. A inclusão de OS afetou de forma quadrática o consumo de nitrogênio (N), não afetou a produção de proteína microbiana (Pmic) e aumentou linearmente a eficiência de síntese de Pmic (g de N/ kg de NDTLG). A produção de leite foi afetada de forma quadrática pela adição de OS, a maior produção de leite (31,3kg/d) ocorreu no tratamento MN. A porcentagem de gordura no leite diminuiu linearmente, já a porcentagem e a produção de proteína do leite foram afetadas de forma quadrática. A variação de peso reduziu linearmente e o balanço de energia não foi afetado pela inclusão de OS. As concentrações no soro de proteína totais, globulinas, albumina e nitrogênio ureico não foram afetadas. As concentrações de colesterol e HDL tiveram interação de tratamento e período com maiores concentrações a partir de 28<sup>o</sup> dias de lactação, as concentrações de LDL aumentaram linearmente e as concentrações de triglicérides teve tendência de aumento. As concentrações de glicose, beta-hidroxibutirato (BHB), ácidos graxos não esterificados (NEFA) e insulina não foram afetados pela inclusão de OS. A inclusão de OS até o MN aumentou o CEM e aumentou produção do leite.

## ABSTRACT

PAULA, Ricardo Marostegan, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2016. **Nutritional and metabolic changes in dairy cows supplemented with soybean oil levels fed sugarcane based diets in early lactation.** Adviser: Luciana Navajas Rennó. Co-advisers: Marcos Inácio Marcondes and Sebastião de Campos Valadares Filho.

The inclusion of soybean oil (SO) in sugarcane diets for early lactating cows may be an alternative to increase energy consumption, reduce energy balance and consequently increase milk production. Our objective was to evaluate milk production, nutritional and metabolic responses of cows at the beginning of lactation, fed sugar cane with different SO levels. Twenty-two Holstein cows were divided into two blocks, fourteen primiparous ( $545 \pm 17.2$  kg body weight) and eight multiparous ( $629 \pm 26.7$  kg body weight). The experimental period was 84 days divided into 3 periods of 28 days. The diets were formulated by adding OS to obtain four levels of ethereal extract (EE) in dry matter (DM): basal diet (B, without addition of SO), low oil level (LL, 40g EE / kg DM), Medium oil level (ML, 70g EE / kg DM) and high oil level (HL, 100g EE / kg DM). The increase in OS levels had a quadratic effect on dry matter (DMI) and metabolizable energy consumption (EMI), with the highest DMI and EMI (19 kg / 227 Mj / d, respectively) occurred in LL treatment . The inclusion of SO had a quadratic effect on nitrogen (N) consumption, did not affect the production of microbial protein (Pmic) and linearly increased the efficiency of Pmic synthesis (g of N / kg of TDNFF). Milk production was quadratically affected by the addition of SO, the highest milk yield (31.3 kg / d) occurred in ML treatment. The percentage of fat in milk decreases linearly, since the percentage and the production of milk protein were affected in a quadratic way. The weight variation reduced linearly and the energy balance was not affected by the inclusion of SO. Total serum protein concentrations, globulins, albumin and urea nitrogen were not affected. Cholesterol and HDL concentrations had treatment interaction and period with higher concentrations from day 28 of lactation, LDL concentrations increased linearly and triglyceride concentrations tended to increase. Concentrations of glucose, beta-hydroxybutyrate (BHB), non-esterified fatty acids (NEFA) and insulin were not affected by the inclusion of SO. The inclusion of SO to ML increased MEI and increased milk production.

## Introdução

A cana-de-açúcar é um volumoso com alto potencial para alimentação de vacas em lactação em regiões tropicais, devido a alta produção por área, flexibilidade no período de colheita (Daniel et al., 2014) e a disponibilidade de energia proveniente dos açúcares e fibras. Contudo, dietas com cana-de-açúcar como fonte exclusiva de volumoso geram limitação no consumo de matéria seca (CMS) devido à baixa digestibilidade da fibra, exigindo assim maiores quantidades de concentrado e conseqüentemente aumento no teor de carboidratos não fibrosos (CNF) das dietas (Oliveira et al., 2011).

Estudos avaliando o uso de cana-de-açúcar para vacas em lactação com de níveis de concentrado de 550 a 600g/kg de matéria seca (MS) indicaram produções de leite entre 20 a 31 kg/dia (Corrêa et al., 2003; Costa et al., 2005) No entanto, essas dietas tinham níveis de CNF acima de 48% da MS, ultrapassando o limite máximo preconizado pelo NRC (2001) de 42% de CNF da MS. Não existem estudos avaliando o uso da cana-de-açúcar no início da lactação, período esse caracterizado pelo balanço energético negativo (BEN). Nesse contexto, a suplementação com gordura pode aumentar o densidade energética e diminuir os altos teores de CNF das dietas com cana-de-açúcar.

Óleos vegetais na alimentação de ruminantes, como o óleo de soja (OS), têm seus efeitos conhecidos sobre a atividade microbiana do rúmen, provocando redução no CMS, digestibilidade da fibra e aumento na produção de leite (Yang et al., 2009; Mapato et al., 2010; Gandra et al., 2014). Entretanto, essas respostas dependem dos níveis de inclusão de gordura, característica basal da forragem e da quantidade de concentrado (Rabiee et al., 2012). Em estudo realizado por Salem et al. (1993), dieta a base de feno suportou a inclusão de 7% de óleo de canola com base na MS sem

prejudicar a digestão ruminal, o que não aconteceu com dietas a base de silagem de milho. Estudos avaliando níveis de gordura (até 67 g de extrato etéreo (EE)/ kg de MS) com inclusão de OS no início de lactação, utilizando silagem de milho com feno de alfafa (Fatahnia et al., 2008), e silagem de milho com feno de alfafa e silagem de azevém (Zheng et al., 2005) como fonte de volumosos, verificaram redução no teor de gordura no leite, porém nenhum efeito no CMS e na produção de leite foram observados. No entanto, estudos com cana-de-açúcar no início da lactação e com inclusão de óleo de forma a elevar o teor de EE para mais que 7% na MS são inexistentes na literatura.

Dessa forma, define-se como hipótese que o aumento dos níveis de EE nas dietas de vacas lactantes no pós-parto, alimentadas com cana-de-açúcar, aumentará o consumo de energia metabolizável (CEM) e conseqüentemente aumentará a produção de leite e reduzirá o BEN. Assim, o objetivo foi avaliar a produção de leite e respostas nutricionais e metabólicas de vacas no início da lactação alimentadas com cana-de-açúcar em dietas com alta inclusão de concentrado adicionando níveis de OS.

### **Material e Métodos**

O presente estudo foi realizado com aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP/ UFV), protocolo nº 72/2014.

#### *Manejo Animal, delineamento experimental e dietas*

Vinte e quatro vacas Holandesas foram divididas em dois blocos, sendo quinze primíparas (545±17,2 kg de peso corporal) e nove multíparas (629±26,7 kg de peso corporal). Após o parto, os animais de cada grupo (primíparas ou multíparas) foram aleatoriamente designados a um dos quatro tratamentos (Tabela 1) e alojadas em baias

individuais coberta providos de bebedouros e comedouro. O período experimental foi de 84 dias divididos em 3 subperíodos de 28 dias. Durante 21 dias pré-parto todos os animais foram alimentados com cana-de-açúcar e concentrado contendo OS refinado (concentrado pré-parto; 150 g de PB e 20 g de OS/kg de MS, em que PB= proteína bruta). As dietas foram formuladas para vacas de 650kg de peso vivo e produção diária de leite de 30 kg/dia segundo NRC (2001) adicionando OS planejando-se quatro níveis de EE na MS: dieta basal (B; sem adição de OS), baixo nível de OS (BN; 40g de EE/kg de MS), médio nível de OS (MN; 70 g de EE/kg de MS) e alto nível de OS (AN; 100 g de EE/kg de MS) (Tabela 1). Dois animais vieram a óbito após o parto (1 multipara e 1 primipara), dessa forma os tratamentos B e MN ficaram com uma unidade experimental a menos. As dietas foram oferecidas *ad libitum* (100 g de sobras/kg de material natural ofertada) e para mantê-las isonitrogenadas, as proporções de milho e soja foram variadas e a proporção de volumoso: concentrado foi fixada em 40:60 (Tabela 1).

A cana-de-açúcar utilizada foi de terceiro corte, variedade RB-867515, cortada diariamente na parte da tarde e triturada na parte da manhã e posteriormente misturada junto com o concentrado para montagem da dieta total (TMR). O teor de sólidos solúveis na cana-de-açúcar foi em média de  $18,9 \pm 1,08$  °Brix. Primeiramente o OS foi adicionado ao concentrado e depois a TMR foi feita para cada vaca.

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia às 05:50h e 14:50h, e após as ordenhas foi fornecida a TMR.

#### *Procedimentos de amostragem*

Foi feita uma mistura de concentrado por período e para estimar a composição da dieta e o consumo de cada nutriente foi feita uma amostragem de cada ingrediente da mistura de concentrado.

O consumo e produção de leite foram mensurados diariamente durante todo o período experimental. O peso corporal (PC) de cada vaca foi mensurado semanalmente e o escore de condição corporal (ECC), em uma escala de 1 a 5, mensurado nos dias 0; 14; 28; 42; 56; 70 e 84 em relação ao parto, ambos após a ordenha da manhã.

Os ensaios de digestibilidade foram realizados na metade dos 28 dias de cada subperíodo experimental, correspondendo aos dias 14, 42 e 70 de lactação. Os alimentos ofertados e as sobras de cada animal foram coletados do 13º ao 17º dia e armazenados para posteriores análises químicas. Oito amostras *spot* de fezes e urina foram coletadas do 14º ao 17º dia de cada período com intervalo de 9 horas (3:00h e 15:00h; 6:00h e 18:00h; 9:00h e 21:00h; 12:00h e 24:00h). Duas alíquotas foram retiradas das amostras de urina, a primeira alíquota de 10 mL foi acidificada com 40 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,036 N) e a segunda alíquota foi armazenada sem diluição, e ambas armazenadas a -20°C. As amostras de fezes foram imediatamente secas a 55°C e depois armazenadas para posteriores análises.

As amostras de leite foram obtidas no 14º e 15º dias de cada período, durante as duas ordenhas diárias e foram feitas amostras proporcionais em função da produção de cada ordenha e armazenadas a -20°C. As amostras foram feitas em duplicata para obtenção da composição do leite. Para análise de ureia e alantoína no leite, 10 mL de leite foram desproteinizadas com 5 mL de ácido tricloroacético (25% p/v), filtrado, e armazenado a -20°C para posterior análise.

As amostras de sangue (20 mL) foram coletadas após a ordenha da manhã nos dias 0, 2, 4, 7, 10, 14, 28, 42, 56, 70 e 84 em relação ao parto. As amostras foram coletadas por punção da artéria e ou veia coccígea através de tubos a vácuo (BD Vacutainer® SST® II Advance®) e para análise de glicose foram utilizados tubos a vácuo fluoretado (BD Vacutainer® Fluoretado/EDTA) e imediatamente após as coletas

foram centrifugadas ( $1000 \times g$ , 10 min). O soro e o plasma (tubo fluoretado) foram separados e diferentes alíquotas foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posteriores análises.

### *Análises Laboratoriais*

As amostras de alimentos, sobras e fezes foram secas a  $55^{\circ}\text{C}$  e moídas em peneiras de 2 e 1 mm e as amostras de leite liofilizadas para as posteriores análises. As análises foram realizadas de acordo com os procedimentos analíticos padrão do Instituto Nacional Brasileiro de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA; Detmann et al., 2012). O teor de MS foi avaliado secando as amostras processadas a 1mm por 16 horas a  $105^{\circ}\text{C}$  pelo método INCT-CA número G-003/1, as cinzas foram avaliadas por completa combustão em mufla a  $600^{\circ}\text{C}$  por 3 horas pelo método número M-001/1, a concentração de nitrogênio (N) foi avaliada pelo método Kjeldahl número G-005/1, considerando 6,25 e 6,38 como fator de conversão de N em proteína para alimentos e leite, respectivamente, o teor de EE foi quantificado pelo procedimento Randall método INCT-CA número G-005/1. A concentração de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína ( $\text{FDN}_{\text{cp}}$ ) foi avaliada utilizando  $\alpha$ -amilase termoestável pelo método INCT-CA número F-002/1. A fibra insolúvel em detergente neutro ( $\text{FDN}_i$ ) dos alimentos e fezes foram estimados por amostras processadas a 2 mm e incubação *in situ* por 288h utilizando sacos F57 (ANKOM®) (Valente et al., 2011).

Devido à alta concentração de gordura nas dietas e à formação de sais de ácidos graxos durante o processo de digestão (AbuGhazaleh et al., 2002), foi realizado hidrólise ácida com ácido clorídrico (ISO, 1973) em todas as amostras de sobras e fezes antes da quantificação do EE. Aproximadamente 4 g de cada amostra foram colocadas em um erlenmeyer e 40 mL de ácido clorídrico foi adicionado (333 mL/L). Cada erlenmeyer foi coberto com vidro relógio e aquecido ( $110^{\circ}\text{C}$ ) por 30 minutos. Após o aquecimento, o conteúdo do erlenmeyer foi filtrado em papel filtro e lavado com água

quente destilada até a neutralização do pH da amostra. O filtro com o conteúdo foi seco a 105°C por 16h e a extração por éter foi realizada pelo procedimento Randall método INCT-CA número G-005/1.

Os perfis de ácidos graxos dos alimentos foram feitos de acordo com Folch et al. (1957). Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu 2010 com injeção automática) utilizando uma coluna capilar SP-2560 (100 × 0.25 mm de diâmetro com 0.02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). Hidrogênio (H<sub>2</sub>) foi utilizado como fase móvel com vazão de 40cm<sup>3</sup>/s.

As análises de ácido úrico e creatinina na urina foram realizadas usando kits comerciais (Bioclin®), determinados por analisador bioquímico automático (BS200E, Mindray, China). As análises de alantoína na urina e no leite desproteínizado foram feitas por colorimetria de acordo com Chen and Gomes (1992).

As concentrações de N, cinzas e MS no leite foram feitas de acordo com os procedimentos citados acima, o teor de gordura no leite foi avaliado de acordo com a AOCS (2004) método Am 5-04.

A concentração de glicose plasmática e de níveis séricos de triglicérides, colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL), proteínas totais (PT), albumina e ureia foram mensuradas utilizando kits comerciais (Bioclin®). As concentrações no soro de ácidos graxos não esterificados (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) foram realizadas utilizando kits comerciais (Randox®). Todas as análises supracitadas foram realizadas por analisador bioquímico automático (Mindray BS-200E, China). As concentrações de insulina no soro foram obtidas utilizando kits comerciais (Beckman Coulter®) e determinadas por técnica de imunoenensaio (Access® 2, Beckman Coulter).

## *Cálculos*

O CMS foi calculado pela diferença de peso da MS da mistura da ração total oferecida e do peso da MS das sobras. A FDN<sub>i</sub> foi utilizada como indicador interno para estimar a produção fecal (Lippke et al., 1986).

A concentração de CNF foi calculada como:  $CNF = MO - [(PB - PB \text{ da ureia} + ureia) + FDN_{cp} + EE]$  (Detmann e Valadares Filho, 2010), onde MO= matéria orgânica . O nível de energia digestível (ED) foi calculado considerando a digestão dos nutrientes e seu valor calórico, como:  $ED \text{ (Mj/kg)} = 4.184 \times [(CNFd \times 0.042) + (FDN_{cp,d} \times 0.042) + (PBd \times 0.056) + (0.094 \times EEd)]$ , onde  $CNFd$  = CNF digestíveis,  $FDN_{cp,d}$  = FDN digestível,  $PBd$  = PB digestível e  $EEd$  = EE digestível (Weiss, 1999; NRC, 2001). O nível de energia metabolizável (EM; MJ/kg) como  $EM = [1.01 \times (ED) - 0.45] + 0.0046 \times (EE - 3)$  (NRC, 2001). Os nutrientes digestíveis totais livre de gordura (NDTLG) foram calculado como  $NDTLG \text{ (kg)} = CNF + PBd + FDN_{d,cp}$  (Galyean and Tedeschi, 2014).

A estimativa do balanço de energia (BE) foi obtida usando as seguintes equações do NRC (2001):  $BE = CEL - (EL_M + EL_L)$ . Consumo de energia líquida (CEL) foi obtido multiplicando o CMS pelo valor de energia líquida calculado da dieta; Energia líquida de manutenção ( $EL_M$ ) =  $0,08 \times PC^{0,75}$ ; Energia líquida de lactação ( $EL_L$ ) =  $[(0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ lactose})] \times \text{produção de leite}$ .

A produção de leite corrigida para energia (PCE) foi calculada como:  $PL \text{ (kg/d)} \times [(38,3 \times \% \text{ gordura do leite}) + (24,2 \times \% \text{ proteína do leite}) + (16,54 \times \% \text{ lactose} + 20,7)] / 3140$ , onde PL = produção de leite e gordura, proteína e lactose em g/kg (Sjauna et al., 1990).

Para estimar o volume diário total de urina foi adotado que a excreção de creatinina diária é de 24,05 mg/kg PC (Chizzotti et al., 2008), e foi dividida pela concentração de creatinina na urina. A excreção total de derivados de purinas (DP) foi

calculada como a soma da excreção de alantoína na urina e no leite e a excreção de ácido úrico na urina. As purinas absorvidas (PA) foram calculadas a partir da excreção de DP (mmol/dia) usando a equação  $PA \text{ (mmol/d)} = (DP + 0,385 \times PC^{0.75}) / 0.85$ , em que 0.85 é a recuperação das purinas absorvidas como derivados de purinas e  $0.385 \times PC^{0.75}$  é a contribuição endógena da excreção de purinas (Verbic et al., 1990). A síntese de proteína microbiana (Pmic) no rúmen foi calculada como descreveu Chen and Gomes (1992) baseado nas purinas absorvidas (PA) como sendo a síntese de Pmic (g PB/dia) =  $[(70 \times PA) / (0,83 \times 0,134 \times 1000)]$ , onde 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol), 0.83 é a digestibilidade das purinas microbianas e 0,134 é a proporção entre N-purina:N-total das bactérias (Valadares et al., 1999).

O nitrogênio ureico do leite (NUL) e o nitrogênio ureico no plasma (NUP) foram estimados considerando que a ureia é composta de 46,6% de N. O balanço de N foi calculado pela diferença entre o N consumido e o N excretado nas fezes, urina e no leite. A concentração de lactose foi calculada por diferença entre o extrato seco total (EST) e os teores de proteína, gordura e cinzas do leite.

Os valores no soro de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a lipoproteína de muito baixa digestibilidade (VLDL) foram estimados de acordo com Friedewald et al. (1972). As globulinas foram calculadas pela diferença entre PT e albumina.

### *Análise estatística*

Os dados foram analisados por meio do MIXED procedimento do SAS 9.3, seguindo o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + M_l + (TB)_{ij} + (TM)_{il} + e_{ijkl}$$

Onde  $\mu$  é media geral,  $T_i$  é o efeito fixo de tratamento,  $B_j$  é o efeito aleatório do bloco,  $M_l$  é o efeito fixo do período,  $(TB)_{ij}$  é o efeito da interação entre tratamento e

bloco,  $(TM)_{il}$  é o efeito da interação entre tratamento e período, e  $e_{ijkl}$  é o erro residual. Nas análises dos parâmetros sanguíneos o período foi interpretado como dia em relação ao parto. Em todas as variáveis o esquema de medidas repetidas no tempo foi adotado interpretando-se período como medida repetida e vaca como sujeito. Os graus de liberdade do resíduo foram calculados usando a aproximação de Kenward-Roger. Os resultados foram expressos como médias de mínimos quadrados com erro padrão da média. As matrizes de covariância das medidas repetidas foram escolhidas de acordo com o menor valor de critério de informação Akaike corrigido (AICc). O efeito dos níveis de EE foi testado com contrastes polinomiais lineares e quadráticos. Para corrigir igualmente o espaço de tratamentos, a função PROC IML's ORPOL do SAS foi utilizada para obter contrastes apropriados aos níveis de EE. A significância do efeito foi determinada a  $P < 0.05$  e valores de  $P \geq 0.05 \leq 0.10$  foram considerados tendência.

## **Resultados**

### *Consumo e digestibilidade*

Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre os níveis de OS e período para todas as características de consumo e digestibilidade (Tabela 2).

O aumento dos níveis de OS promoveu efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) no consumo de MS, MO, PB e EE. O BN obteve o maior consumo de MS, MO e PB (19,0; 17,4; e 3,21 kg/d, respectivamente), enquanto que, o AN promoveu maior consumo de EE (2,73 kg/d). Os consumos de  $FDN_{cp}$ ,  $FDN_{pd}$  e CNF foram reduzidos linearmente ( $P < 0,05$ ) com a inclusão de OS (Tabela 2).

O aumento dos níveis de OS reduziu linearmente ( $P < 0,05$ ) o consumo de MS e  $FDN_{cp}$  (g/kg de PC), e apresentou efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) no CEM, sendo o maior consumo do BN (227Mj/d) (Tabela 2).

O aumento dos níveis de OS aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ) a digestibilidade aparente total da PB e teve efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) sobre a digestibilidade aparente total do EE, sendo que a maior digestibilidade ocorreu para o MN (683g/kg). A digestibilidade aparente total da  $FDN_{cp}$ , foi reduzida linearmente ( $P < 0,05$ ) pela adição de OS, redução média de 10,5% entre os tratamentos B e AN (Tabela 2).

Todos os parâmetros de consumo foram afetados ( $P < 0,05$ ) pelo período acompanhando o aumento no CMS ao longo dos dias de lactação. Entretanto, as variáveis de digestibilidade não foram afetadas ( $P > 0,05$ ) pelo período (Tabela 2).

#### *Balanço de nitrogênio e síntese microbiana*

Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre níveis de OS e período para o balanço de N, síntese de  $P_{mic}$  e suas eficiências (Tabela 3).

O aumento dos níveis de OS apresentou efeito quadrático no consumo de N ( $P < 0,05$ ), no entanto, houve redução linear ( $P < 0,05$ ) na excreção de N nas fezes. O aumento dos níveis de OS não afetou ( $P > 0,05$ ) a excreção de N na urina e no leite, o N retido e a proporção em g de N/kg de N ingerido, na urina, no leite e retido, porém apresentou uma tendência de redução linear ( $P < 0,10$ ) na proporção da excreção de N nas fezes (Tabela 3).

O aumento dos níveis de OS não afetou ( $P > 0,05$ ) a síntese de  $P_{mic}$  e as eficiências microbianas, com exceção daquela expressa em g de  $P_{mic}/kg$  NDTLG, que aumentou linearmente com a inclusão de OS ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3).

A excreção de N na urina e no leite foram afetados ( $P < 0,05$ ) pelo período, apresentando aumento com o avançar da lactação (Tabela 3).

### *Produção e composição do leite*

Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre a inclusão de OS e período para produção de lactose e gordura, em kg/d (Tabela 4).

O aumento dos níveis de OS promoveu efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) na produção de leite, sendo o MN aquele que alcançou a maior produção de leite (31,3 kg/d) (Tabela 4) e também apresentou superior durante praticamente durante todo o período experimental (Figura 1). A PCE e a eficiência alimentar (EA) não foram afetadas ( $P > 0,05$ ) pelo aumento dos níveis de OS (Tabela 4).

A concentração de gordura no leite decresceu linearmente ( $P < 0,05$ ) com o aumento dos níveis de OS, já a concentração e a quantidade de proteína do leite foram afetadas de forma quadrática ( $P < 0,05$ ). O BN teve a menor concentração de proteína no leite (28,1 g/kg), por outro lado o MN teve a maior produção de proteína no leite (0,91 kg/d) (Tabela 4).

A inclusão de OS aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ) a variação de PC, sendo que os animais do AN tiveram a maior perda de peso, uma diferença de 0,60 kg/dia para o B, no entanto, não afetou ( $P > 0,05$ ) a variação de ECC e o BE (Tabela 4),

O período afetou ( $P < 0,05$ ) os parâmetros de produção de leite e produção de proteína do leite (g/kg), além disso, afetou positivamente ( $P < 0,05$ ) a variação de PC e de ECC (Tabela 4).

### *Parâmetros sanguíneos*

A inclusão de OS não afetou ( $P > 0,05$ ) as concentrações de proteínas totais, globulinas, albumina e N ureico no soro, por outro lado as concentrações desses metabólitos variaram ( $P < 0,05$ ) ao longo dos dias de lactação (Figura 2). A concentração de proteínas totais aumentou de 6,0 mg/dL até 7,5mg/dL, sendo que esse aumento

ocorreu principalmente do parto até o 42<sup>o</sup> dia de lactação, atingindo um platô até o final do período experimental. A concentração de albumina praticamente manteve-se constante do parto ao 14<sup>o</sup> dia de lactação, após esse período as concentrações aumentaram até o final do experimento, variando de 3,25 até 3,6g/dL do parto até 84<sup>o</sup> dia de lactação (Figura 2).

Houve interação entre a inclusão de OS e dias de lactação ( $P < 0,05$ ) para as concentrações de colesterol e HDL, sendo que as concentrações foram inferiores, notadamente, para o B após o 28<sup>o</sup> dia lactação (Figura 3). A inclusão de OS aumentou ( $P < 0,05$ ) as concentrações de LDL, sendo que após o 28<sup>o</sup> dia, a concentração de LDL do B mostrou-se inferior aos outros tratamentos (Figura 3). A inclusão de OS tendeu a aumentar as concentrações de triglicerídeos ( $P < 0,10$ ), e não afetou ( $P > 0,05$ ) a relação LDL/HDL, no entanto, essa relação foi afetada ao longo da lactação aumentando, principalmente após o 28<sup>o</sup> dia de lactação (Figura 3).

A inclusão de OS não afetou ( $P > 0,05$ ) as concentrações de glicose, insulina, BHB e NEFA, porém estes foram influenciados ( $P < 0,05$ ) pelos dias de lactação (Figura 4). A concentração de glicose foi maior no dia do parto reduzindo drasticamente até o segundo dia de lactação (de 95mg/dL para 65mg/dL), depois se manteve constante até o final do período experimental. As concentrações de NEFA e BHB foram maiores até o 10<sup>o</sup> dia de lactação, sendo que após esse dia, foram reduzindo até o final do período experimental. A concentração de insulina reduziu do parto até o 10<sup>o</sup> dia de lactação e voltou a aumentar após 42<sup>o</sup> dia de lactação (Figura 4).

## **Discussão**

A inclusão de óleos em dietas de vacas leiteiras na maioria das vezes reduz o CMS e a digestibilidade da  $FDN_{cp}$  (Harvatine and Allen, 2006; Martin et al., 2008; Mapato et al., 2010; Lunsin et al., 2012). Segundo Jenkins (1993), o efeito da inclusão

de gordura na redução do CMS pode ser explicado principalmente pelo comprometimento da fermentação ruminal. No presente estudo, a queda no CMS e na digestibilidade da FDNcp ocorreu principalmente no tratamento AN (Tabela 2), sendo assim, a inclusão de mais de 59,9 g de EE/kg de MS pode ter afetado os microrganismos degradadores de fibra e, conseqüentemente, ocasionando o decréscimo no CMS e na digestibilidade aparente total da FDNcp de 13,5% e 10,5% respectivamente, em relação ao B. Rodrigues et al. (2016, no prelo) encontraram, com as mesmas dietas desse estudo, um comportamento quadrático e redução de 30% no CMS para vacas no terço médio de lactação suplementadas com 87,7 g de EE/kg de MS.

O CEM até o tratamento MN provavelmente foi a responsável pelo aumento da produção de leite (Tabelas 2 e 4). AlZahal et al. (2008) suplementando vacas leiteiras com 3,9% de OS/ kg de MS encontraram aumento da produção de leite, relacionando esse fato ao aumento da ingestão de energia. O aumento da produção de leite do tratamento BN para o MN, pode ter ocorrido devido a menor perda de energia para a produção de gordura no leite, verificada pela queda da produção de gordura no leite e da PCE do tratamento MN (Tabela 4). A redução da síntese de gordura na glândula mamária pode ser causada pelo acúmulo de isômeros CLA, especificamente trans 10 cis 12 que ocorre devida a incompleta biohidrogenação no rúmen quando aumenta inclusão de óleos insaturados na dieta (Shingfield et al., 2010), o que provavelmente causou a redução da porcentagem de gordura no leite em 20% do tratamento MN em relação ao B (Tabela 4).

A redução na porcentagem de proteína do leite está quase sempre relacionada com aumento na produção do leite, sugerindo que na maioria das vezes a redução da proteína do leite é causada por um efeito de diluição ao invés da redução da síntese de Pmic

(AlZahal et al., 2008). No presente estudo ocorreu aumento da produção de leite e da até o tratamento MN e não houve alteração na síntese de Pmic, evidenciando o efeito de diluição (Tabela 4). A inclusão de OS não altera a síntese de Pmic (Stern et al., 1994), mas segundo Doreau and Ferlay (1995) pode alterar a eficiência de síntese de Pmic. A alteração da eficiência de síntese de Pmic pode ser causada pela redução da população de protozoários no rúmen ou pela redução da fermentação ruminal da matéria orgânica. No presente estudo houve aumento da eficiência de síntese de Pmic (g de Pmic/kg de NDTLG) com a inclusão de OS (Tabela 3), assim como aconteceu no de Rodrigues et al. (2016, no prelo).

A falta de efeito na digestibilidade total aparente da MS, MO, CNF pode ser explicada pela queda no CMS, que reduz a taxa de passagem dos nutrientes favorecendo a digestão (Van Soest, 1994), já o aumento na digestibilidade do EE pode ser explicado pelo aumento da concentração desse nutriente na dieta (Elliott et al., 1993).

O AN apresentou uma queda 14% no de CMS, 11,5% na digestibilidade da FDNcp e perda de peso corporal de 0,69kg, prejudicando a resposta produtiva, sendo assim esse nível de inclusão deve ser evitado.

O colesterol, LDL e HDL são responsáveis pelo transporte dos ácidos graxos, assim quando gordura é adicionada na dieta verifica-se aumento dos níveis desses no sangue (Elliott et al., 1993; Bremmer et al., 1998). Provavelmente, o efeito de interação nas concentrações de colesterol e HDL aconteceu devido ao aumento do consumo de EE ao longo da lactação dos tratamentos que tiveram inclusão de OS, evidenciado pelas menores concentrações desses metabólitos no tratamento B após o 28<sup>o</sup> dia de lactação (Figura 2). Kessler et al. (2014) e Karimian et al. (2015) encontraram que as concentrações de colesterol, LDL e HDL aumentam significativamente do parto até o 94<sup>o</sup> e 56<sup>o</sup> dia de lactação, respectivamente, corroborando com os dados deste estudo.

Segundo Avila et al. (2000), a suplementação lipídica aumenta a absorção de ácidos graxos, conseqüentemente aumentando a concentração de lipídios no plasma, explicando a tendência de aumento das concentrações de triglicérides para os tratamentos que tiveram inclusão de OS.

Quando as concentrações de NEFA excede a capacidade do fígado em realizar a completa oxidação desses ácidos graxos, as concentrações de BHB aumentam no sangue. Segundo LeBlanc (2010) níveis de BHB acima de 12,5mg/dl começam a afetar a saúde animal. As concentrações de proteínas totais e albumina estão de acordo com Kaneko et al. (2008), evidenciando que as funções hepáticas não foram prejudicadas pela a inclusão de OS. Como as concentrações de BHB e albumina ficaram abaixo dos níveis supracitados, a inclusão de OS não comprometeu o funcionamento hepático dos animais.

No decorrer da lactação ocorreu aumento no CMS conseqüentemente aumentou o CEM (Figura 1 e Tabela 4). As respostas dos parâmetros sanguíneos acompanharam o aumento do CMS principalmente após o 28<sup>o</sup> dia, aumentando as concentrações séricas de colesterol, LDL e HDL e insulina, e reduzindo as concentrações de BHB e NEFA.

### **Conclusão**

A inclusão de OS em dietas com altos níveis de concentrado e cana-de-açúcar como fonte de volumoso mostrou-se potencialmente viável até a inclusão de 59,9 g de EE/Kg de MS no aumento da produção de leite, no entanto a composição do leite deve ser levada em consideração uma vez que a composição de gordura e proteína decresceram.

## Referências Bibliográficas

- AOCS, 2004. Official Method Am 5-04 Oil. Rapid Determination of Oil/Fat Utilizing High Temperature Solvent Extratction.
- AbuGhazaleh, a. a., Schingoethe, D.J., Hippen, a. R., Kalscheur, K.F., Whitlock, L. a., 2002. Fatty Acid Profiles of Milk and Rumen Digesta From Cows Fed Fish Oil, Extruded Soybeans or Their Blend. *J. Dairy Sci.* 85, 2266–2276. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74306-3
- AlZahal, O., Odongo, N.E., Mutsvangwa, T., Or-Rashid, M.M., Duffield, T.F., Bagg, R., Dick, P., Vessie, G., McBride, B.W., 2008. Effects of monensin and dietary soybean oil on milk fat percentage and milk fatty acid profile in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91, 1166–1174. doi:10.3168/jds.2007-0232
- Avila, C.D., DePeters, E.J., Perez-Monti, H., Taylor, S.J., Zinn, R.A., 2000. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 1505–1519. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)75023-5
- Bremmer, D.R., Ruppert, L.D., Clark, J.H., Drackley, J.K., 1998. Effects of Chain Length and Unsaturation of Fatty Acid Mixtures Infused into the Abomasum of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 81, 176–188. doi:10.3168/jds.S0022-0302(98)75565-1
- Chen, X.B., Gomes, M.J., 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – An overview of the technical details. Occasional Publication. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, UK.
- Chizzotti, M.L., Valadares Filho, S. de C., Valadares, R.F.D., Chizzotti, F.H.M., Tedeschi, L.O., 2008. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Livest. Sci.* 113, 218–225. doi:10.1016/j.livsci.2007.03.013
- Corrêa, C.E.S., Pereira, M.N., Oliveira, S.G. de, Ramos, M.H., 2003. Performance of Holstein cows fed sugarcane or corn silages of different grain textures. *Sci. Agric.* 60, 621–629. doi:10.1590/S0103-90162003000400003
- Costa, M.G., De Souza Campos, J.M., De Campos Valadares Filho, S., Valadares, R.F.D., De Souza Mendonça, S., De Paula Souza, D., Da Paschoa Teixeira, M., 2005. Desempenho produtivo de vacas leiteiras alimentadas com diferentes proporções de cana-de-açúcar e concentrado ou silagem de milho na dieta. *Rev. Bras. Zootec.* 34, 2437–2445. doi:10.1590/S1516-35982005000700032
- Daniel, J.L.P., Capelesso, A., Cabezas-Garcia, E.H., Zopollatto, M., Santos, M.C., Huhtanen, P., Nussio, L.G., 2014. Fibre digestion potential in sugarcane across the harvesting window. *Grass Forage Sci.* 69, 176–181. doi:10.1111/gfs.12044
- de Oliveira, A.S., Detmann, E., de Souza Campos, J.M., dos Santos Pina, D., de Souza, S.M., Costa, M.G., 2011. Meta-análise do impacto da fibra em detergente neutro sobre o consumo, a digestibilidade e o desempenho de vacas leiteiras em lactação. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 1587–1595. doi:10.1590/S1516-35982011000700026
- Detmann, E., Valadares Filho, S.C., 2010. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 62, 980–984. doi:10.1590/S0102-09352010000400030

- Detmann, E., M. A. Souza, S. C. Valadares Filho, A. C. Queiroz, T. T. Berchielli, E. O. S. Saliba, L. S. Cabral, D. S. Pina, M. M. Ladeira, and J. A. G. Azevedo. 2012. Métodos para análise de alimentos – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Ciência Animal, INCT-CA. Universidade Federal de Viçosa, Visoça, MG. p. 214.
- Doreau, M., FERLAY, A., 1995. Effect of Dietary Lipids on Nitrogen-Metabolism in the Rumen - a Review. *Livest. Prod. Sci.* 43 , 97–110. doi:10.1016/0301-6226(95)00041-1
- Elliott, J.P., Drackley, J.K., Schauff, D.J., Jaster, E.H., 1993. Diets Containing High Oil Corn and Tallow for Dairy-Cows During Early Lactation. *J. Dairy Sci.* 76, 775–789. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77401-9
- Fatahnia, F., Nikkhah, A., Zamiri, M.J., Kahrizi, D., 2008. Effect of Dietary Fish oil and Soybean Oil on Milk Production and Composition of Holstein Cows in Early Lactation. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 21, 386–391. doi:10.5713/ajas.2008.60494
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–509.
- Friedewald, W.T., Levy, R.I., Fredrickson, D.S., 1972. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18, 499–502.
- Galyean, M.L., Tedeschi, L.O., 2014. Predicting microbial protein synthesis in beef cattle: relationship to intakes of total digestible nutrients and crude protein. *J. Anim. Sci.* 92, 5099–111. doi:10.2527/jas.2014-8098
- Gandra, J.R., Freitas Junior, J.E. de, Maturna Filho, M., Barletta, R.V., Verdurico, L.C., Rennó, F.P., 2014. Soybean oil and calcium salts of fatty acids as fat sources for Holstein dairy cows in transition period. *Rev. Bras. Saúde e Produção Anim.* 15, 83–93. doi:10.1590/S1519-99402014000100012
- Harvatine, K.J., Allen, M.S., 2006. Effects of fatty acid supplements on ruminal and total tract nutrient digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 1092–1103. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72177-4
- Janovick, N. a, Boisclair, Y.R., Drackley, J.K., 2011. Prepartum dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 94, 1385–1400. doi:10.3168/jds.2010-3303
- Jenkins, T.C., 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76, 3851–3863. doi:10.1016/0079-6832(78)90004-6
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. 2008. *Clinical Biochemistry of domestic animals*, six edition. 904p.
- Karimian, M., Khorvash, M., Forouzmand, M. a, Alikhani, M., Rahmani, H.R., Ghaffari, M.H., Petit, H. V, 2015. Effect of prepartal and postpartal dietary fat level on performance and plasma concentration of metabolites in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98, 330–7. doi:10.3168/jds.2013-7577
- Kessler, E.C., Gross, J.J., Bruckmaier, R.M., Albrecht, C., 2014. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. *J. Dairy Sci.* 97, 5481–5490. doi:10.3168/jds.2014-7926
- Krizsan, S.J., Huhtanen, P., 2013. Effect of diet composition and incubation time on

- feed indigestible neutral detergent fiber concentration in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96, 1715–26. doi:10.3168/jds.2012-5752
- LeBlanc, S., 2010. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J. Reprod. Dev.* 56 Suppl, S29–S35. doi:10.1262/jrd.1056S29
- Lippke, H., Ellis, W.C., Jacobs, B.F., 1986. Recovery of Indigestible Fiber from Feces of Sheep and Cattle on Forage Diets. *J. Dairy Sci.* 69, 403–412. doi:10.3168/jds.S0022-0302(86)80418-0
- Lunsin, R., Wanapat, M., Yuangklang, C., Rowlinson, P., 2012. Effect of rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. *Livest. Sci.* 145, 167–173. doi:10.1016/j.livsci.2012.01.015
- Mapato, C., Wanapat, M., Cherdthong, A., 2010. Effects of urea treatment of straw and dietary level of vegetable oil on lactating dairy cows. *Trop. Anim. Health Prod.* 42, 1635–42. doi:10.1007/s11250-010-9613-3
- Martin, C., Rouel, J., Jouany, J.P., Doreau, M., Chilliard, Y., 2008. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *J. Anim. Sci.* 86, 2642–2650. doi:10.2527/jas.2007-0774
- NRC, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th ed. National Academy Press, Washington, DC., USA.
- Rabiee, a R., Breinhild, K., Scott, W., Golder, H.M., Block, E., Lean, I.J., 2012. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: a meta-analysis and meta-regression. *J. Dairy Sci.* 95, 3225–47. doi:10.3168/jds.2011-4895
- Salem, H. Ben, Krzeminski, R., Ferlay, a., Doreau, M., 1993. Effect of lipid supply on in vivo digestion in cows: Comparison of hay and corn silage diets. *Can. J. Anim. Sci.* 57. doi:10.4141/cjas93-059
- Shingfield, K.J., Bernard, L., Leroux, C., Chilliard, Y., 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4, 1140–1166. doi:10.1017/S1751731110000510
- Sjauna, L.O., Baevre, L., Junkkarinen, L., Pedersen, Setälä, J.J., 1990. A nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formular, in: 27th Session International Committee of Recording and Productivity of Milk Animal. Paris, France, pp. 156–157.
- Stern, M.D., Varga, G. a, Clark, J.H., Firkins, J.L., Huber, J.T., Palmquist, D.L., 1994. Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 77, 2762–2786. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77219-2
- Valadares, R.F., Broderick, G.A., Valadares Filho, S.C., Clayton, M.K., 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J. Dairy Sci.* 82, 2686–96.
- Valente, T.N.P., Detmann, E., Queiroz, A.C. de, Valadares Filho, S. de C., Gomes, D.I., Figueiras, J.F., 2011. Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from different textiles. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 2565–2573. doi:10.1590/S1516-35982011001100039
- Verbic, J., Chen, X.B., MacLeod, N.A., Ørskov, E.R., 2009. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine

derivative excretion by steers. *J. Agric. Sci.* 114, 243.  
doi:10.1017/S0021859600072610

Weiss, W.P., 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds, in: *Proceedings of Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Ithaca, NY, pp. 176–185.

Yang, S.L., Bu, D.P., Wang, J.Q., Hu, Z.Y., Li, D., Wei, H.Y., Zhou, L.Y., Looor, J.J., 2009. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal* 3, 1562–9.  
doi:10.1017/S1751731109990462

Zheng, H.C., Liu, J.X., Yao, J.H., Yuan, Q., Ye, H.W., Ye, J.A., Wu, Y.M., 2005. Effects of dietary sources of vegetable oils on performance of high-yielding lactating cows and conjugated linoleic acids in milk. *J. Dairy Sci.* 88, 2037–42.  
doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72880-0

## Tabelas

**Tabela 1.** Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

	Nível de óleo de soja <sup>1</sup>			
	B	BN	MN	AN
<b>Ingrediente, g/kg de MS</b>				
Matéria seca	469	477	462	480
Cana-de-açúcar	400	400	400	400
Milho grão	330	309	275	238
Farelo de soja	216	221	227	234
Óleo de Soja	-	15,7	44,3	73,4
Bicarbonato de sódio	9,1	9,1	9,1	9,1
Fosfato bicálcico	8,6	8,6	8,6	8,6
Ureia	8,3	8,3	8,3	8,3
Calcário	6,5	6,5	6,5	6,5
Cloreto de potássio	5,7	5,7	5,7	5,7
Sal	5,5	5,5	5,5	5,5
Sulfato de magnésio	4,3	4,3	4,3	4,3
Óxido de magnésio	3,4	3,4	3,4	3,4
Enxofre	1,5	1,5	1,5	1,5
Sulfato de amônia	0,9	0,9	0,9	0,9
Vitaminas <sup>2</sup>	0,6	0,6	0,6	0,6
Sulfato de zinco	0,1	0,1	0,1	0,1
BHT <sup>3</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1
<b>Composição, g/kg de MS</b>				
Matéria orgânica	920	920	920	919
Proteína bruta	162	163	163	163
Extrato etéreo	17,4	32,4	59,9	87,7
FDN <sub>cp</sub>	231	229	226	224
FDNi	72,9	72,4	72	71,6
FDND <sup>4</sup>	158	157	154	152
CNF <sup>5</sup>	470	458	435	412
ED <sup>6</sup> (MJ/kg DM)	12,0	12,8	13,0	13,1
<b>Ácidos graxos, g/100g de EE</b>				
16:0	19,1	18,0	17,4	17,2
18:0	3,4	3,7	3,9	4,0
18:1 cis-9	24,5	22,8	22,0	21,7
18:2n-6	40,7	41,5	41,9	42,1
18:3n-3	8,2	8,9	9,2	9,3

<sup>1</sup>Nível de OS: B = Basal - sem adição de óleo de soja; BN = Baixo nível - adição de óleo de soja para alcançar 40 g EE/kg de MS; MN = Média nível - adição de óleo de soja para alcançar 70 g EE/kg de MS; AN = Alto nível - adição de óleo de soja para alcançar 100 g EE/kg de MS;

<sup>2</sup>Vitaminas: 13.570 kUI/kg de vitamina A, 3.520 kUI/kg de vitamina D3, 9.500 UI/kg of vitamina E; 500 mg/kg de BHT;

<sup>3</sup>BHT: Hidróxido de tolueno butilado;

<sup>4</sup>FDND: Digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN<sub>cp</sub> – FDNi);

<sup>5</sup>CNF: Corboidratos não fibrosos de acordo com Detmann and Valadares Filho, 2010;

<sup>6</sup>ED: Energia digestível de acordo com NRC, 2001

**Tabela 2.** Consumo e digestibilidade aparente total de vacas alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar suplementadas com níveis de óleo de soja.

Item	Nível de óleo de soja <sup>1</sup>				Período			EPM <sup>2</sup>	P-valor			
	B	BN	MN	AN	1	2	3		Tratamento			
								P×T <sup>4</sup>	P <sup>3</sup>	L	Q	
Consumo, kg/d												
MS	18,5	19,0	18,3	16,0	15,9	18,5	19,4	1,830	0,29	<0,01	<0,01	0,03
MO	17,1	17,4	16,8	14,7	14,5	17,0	17,9	1,620	0,29	<0,01	<0,01	0,02
PB	2,96	3,21	3,04	2,73	2,63	3,08	3,24	0,315	0,56	<0,01	<0,01	0,02
EE	0,35	0,68	1,16	1,47	0,81	0,94	1,00	0,095	0,57	<0,01	<0,01	<0,01
FDN <sub>cp</sub>	4,25	4,19	3,86	3,39	3,54	4,08	4,16	0,577	0,25	<0,01	<0,01	0,39
FDN <sub>pd</sub>	2,93	2,91	2,72	2,35	2,45	2,86	2,87	0,407	0,28	<0,01	<0,01	0,26
CNF	9,81	9,61	8,85	7,40	7,79	9,19	9,77	0,659	0,27	<0,01	<0,01	0,13
Consumo, g/kg PC												
MS	34,7	34,4	33,1	30,0	28,8	34,3	35,7	1,370	0,15	<0,01	0,01	0,57
FDN <sub>cp</sub>	8,10	7,39	6,86	6,06	6,51	7,40	7,41	0,333	0,12	<0,01	<0,01	0,77
Consumo, Mj/d												
EM <sup>5</sup>	203	227	223	191	179	220	238	18,9	0,49	<0,01	0,13	0,01
Digestibilidade aparente, g/kg												
MS	718	753	726	721	715	735	740	13,1	0,54	0,14	0,57	0,31
MO	727	763	733	728	724	743	746	12,5	0,54	0,16	0,48	0,29
PB	735	757	771	788	755	757	776	15,7	0,46	0,34	0,02	0,74
EE	586	677	683	629	622	648	662	25,3	0,55	0,37	0,21	<0,01
FDN <sub>cp</sub>	372	439	373	333	363	388	385	24,1	0,74	0,62	0,03	0,08
FDN <sub>pd</sub>	496	623	517	477	508	537	539	30,1	0,76	0,62	0,11	0,07
CNF	896	911	910	911	903	907	911	4,7	0,06	0,36	0,07	0,22

<sup>1</sup>Nível de óleo de soja: B = Basal - sem adição de óleo de soja; BN = Baixo nível - adição de óleo de soja para alcançar 40 g EE/kg de MS; MN = Médio nível - adição de óleo de soja para alcançar 70 g EE/kg de MS; AN = Alto nível - adição de óleo de soja para alcançar 100 g EE/kg de MS;

<sup>2</sup>EPM = Erro padrão da média;

<sup>3</sup>P = Efeito de Período;

<sup>4</sup>T×P = Efeito de interação de tratamento e período;

<sup>5</sup>EM = Energia metabolizável de acordo com o NRC (2001).

**Tabela 3.** Balanço de nitrogênio, síntese e eficiências microbianas de vacas alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar suplementadas com níveis de óleo de soja.

	Nível de óleo de soja <sup>1</sup>				Período			EPM <sup>2</sup>	P-valor			
	B	BN	MN	NA	1	2	3		Tratamento			
									P×T <sup>3</sup>	P <sup>4</sup>	L	Q.
g de N/ dia												
Consumo	473	514	487	437	421	493	519	11,1	0,56	<0,01	0,01	0,02
Fezes	118	123	120	88	100	119	119	4,6	0,68	0,18	0,03	0,09
Urina	201	216	200	200	179	209	224	6,4	0,16	<0,01	0,56	0,67
Leite	114	129	133	118	113	127	130	3,9	0,92	0,01	0,82	0,16
Retido	34,5	41,7	30,2	26,6	22,8	35,5	41,5	6,80	0,27	0,59	0,52	0,83
g de N /kg de N ingerido												
Fezes	254	253	243	210	242	248	230	8,3	0,76	0,68	0,09	0,51
Urina	426	414	414	452	425	422	431	10,0	0,15	0,92	0,32	0,24
Leite	250	255	277	275	280	262	251	7,7	0,61	0,29	0,27	0,71
Retido	64,8	86,2	56,8	61,6	47,2	69,4	85,5	14,14	0,31	0,61	0,72	0,93
Síntese e eficiência microbianas												
g de Nmic/d	129	144	149	151	135	145	150	30,4	0,38	0,50	0,69	0,80
g de Pmic <sup>5</sup> /kg MOD <sup>6</sup>	96	117	118	140	124	115	114	23,3	0,52	0,80	0,48	0,99
g de Pmic/kg NDT <sup>7</sup>	100	120	105	121	127	102	106	10,5	0,69	0,09	0,27	0,99
g de Pmic/kg NDTLG <sup>8</sup>	103	130	121	145	142	114	119	10,6	0,74	0,10	0,02	0,97

<sup>1</sup>Nível de OS: B = Basal - sem adição de óleo de soja; BN = Baixo nível - adição de óleo de soja para alcançar 40 g EE/kg de MS; MN = Médio nível - adição de óleo de soja para alcançar 70 g EE/kg de MS; AN = Alto nível - adição de óleo de soja para alcançar 100 g EE/kg de MS;

<sup>2</sup>EPM = Erro padrão da média;

<sup>3</sup>P = Efeito de Período;

<sup>4</sup>T×P = Efeito de interação de tratamento e período;

<sup>5</sup>Pmic= Proteína microbiana

<sup>6</sup>MOD: Matéria orgânica digestível;

<sup>7</sup>NDT = Nutrientes digestível total de acordo com NRC (2001);

<sup>8</sup>NDTLG = Nutrientes digestível total livre de gordura de acordo com Galyean and Tedeschi (2014).

**Tabela 4.** Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas a base de cana-de-açúcar suplementadas com níveis de óleo de soja.

Item	Nível de óleo de soja <sup>1</sup>				Período			EPM <sup>2</sup>	P-valor				
	B	BN	MN	AN	1	2	3		Tratamento				
									P×T <sup>3</sup>	P <sup>4</sup>	L	Q	
Produção de Leite													
kg/d	23,9	28,7	31,3	25,2	25,0	28,4	28,4	3,06	0,06	<0,01	0,65	<0,01	
PCE <sup>5</sup> , kg/d	24,2	27,9	27,3	23,0	23,7	27,0	26,1	2,91	0,13	<0,01	0,38	0,07	
EA <sup>6</sup> , kg PCE/kg CMS	0,76	0,70	0,67	0,72	0,68	0,70	0,77	0,016	0,58	0,04	0,43	0,13	
Lactose													
g/kg	45,6	45,8	45,6	43,7	45,4	45,2	44,8	0,33	0,63	0,67	0,11	0,30	
kg/d	1,09	1,32	1,43	1,09	1,14	1,29	1,27	0,033	0,02	<0,01	0,91	<0,01	
Gordura													
g/kg	41,8	41,4	33,6	36,3	38,9	39,0	37,0	0,80	0,46	0,32	<0,01	0,11	
kg/d	1,02	1,16	0,94	0,91	0,94	1,07	1,01	0,032	0,02	0,03	0,13	0,65	
Proteína													
g/kg	31,2	28,1	29,1	30,3	29,5	29,6	30,0	0,40	0,59	0,87	0,94	0,04	
kg/d	0,75	0,86	0,91	0,76	0,77	0,84	0,85	0,022	0,27	0,02	0,88	0,03	
NUL <sup>7</sup>	9,4	10,0	10,1	10,2	10,4	9,3	10,1	0,735	0,76	0,08	0,21	0,54	
Varição do PC <sup>8</sup> , kg/d	-0,09	-0,31	-0,21	-0,69	-1,37	0,15	0,23	0,145	0,87	<0,01	0,04	0,39	
Varição do ECC <sup>9</sup>	-0,12	-0,11	-0,18	-0,16	-0,38	-0,08	0,04	0,036	0,22	<0,01	0,53	0,78	
BE <sup>10</sup> Mj/d	-6,02	-2,64	1,92	-17,6	-4,69	-6,74	-6,74	19,561	0,57	0,98	0,38	0,22	

<sup>1</sup>Nível de OS: B = Basal sem adição de óleo de soja; BN = Baixo nível - adição de óleo de soja para alcançar 40 g EE/kg de MS; MN = Médio nível - adição de óleo de soja para alcançar 70 g EE/kg de MS; AN = Alto nível - adição de óleo de soja para alcançar 100 g EE/kg de MS;

<sup>2</sup>EPM = Erro padrão da média;

<sup>3</sup>P = Efeito de Período;

<sup>4</sup>T×P = Efeito de interação de tratamento e período;

<sup>5</sup>PCE = Produção de leite corrigida para energia de acordo com Sjauna et al. (1990);

<sup>6</sup>EA = Eficiência alimentar;

<sup>7</sup>NUL= Nitrogênio ureico no leite.

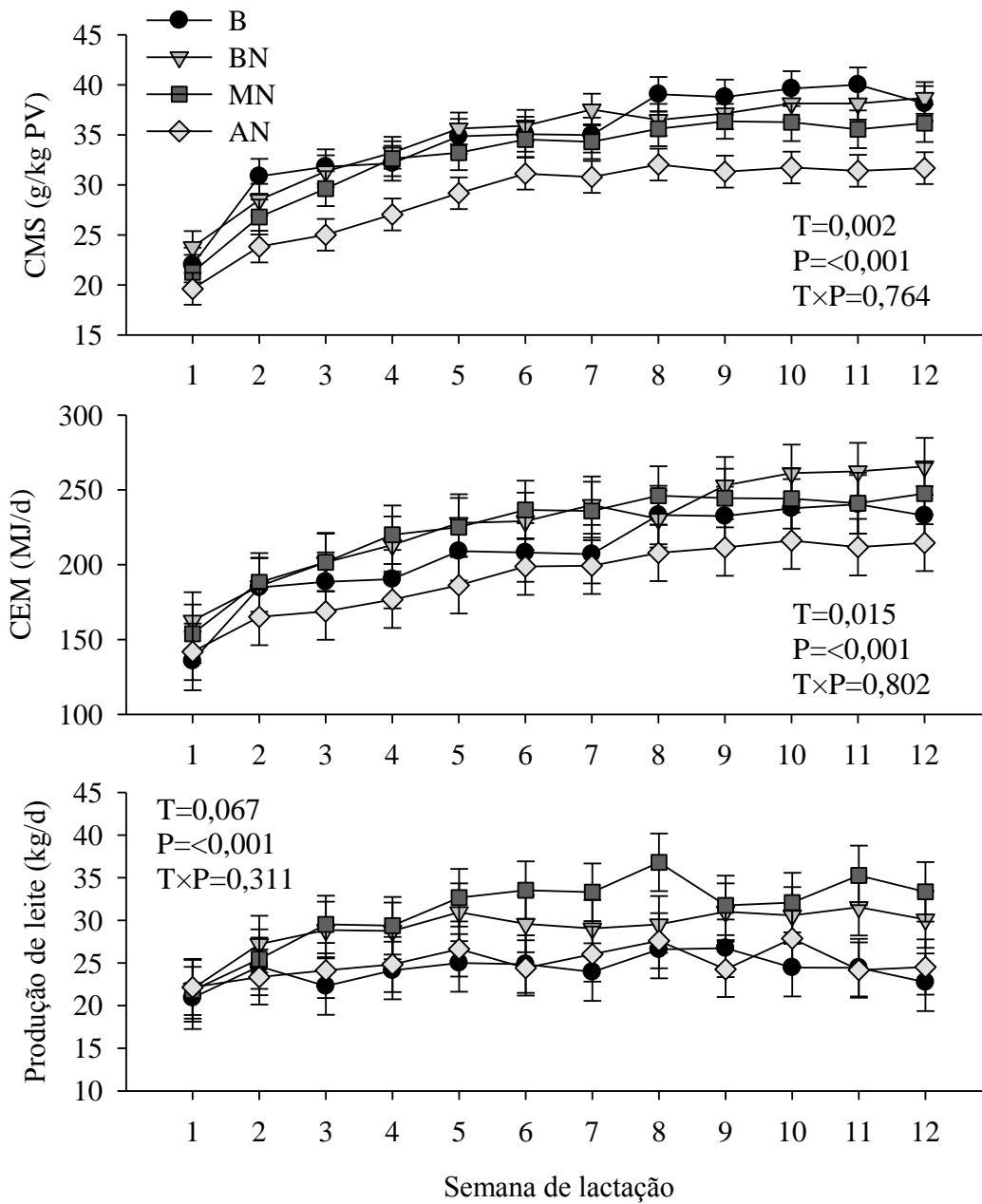
<sup>8</sup>PC = Peso corporal.

<sup>9</sup>ECC = Escore de condição corporal.

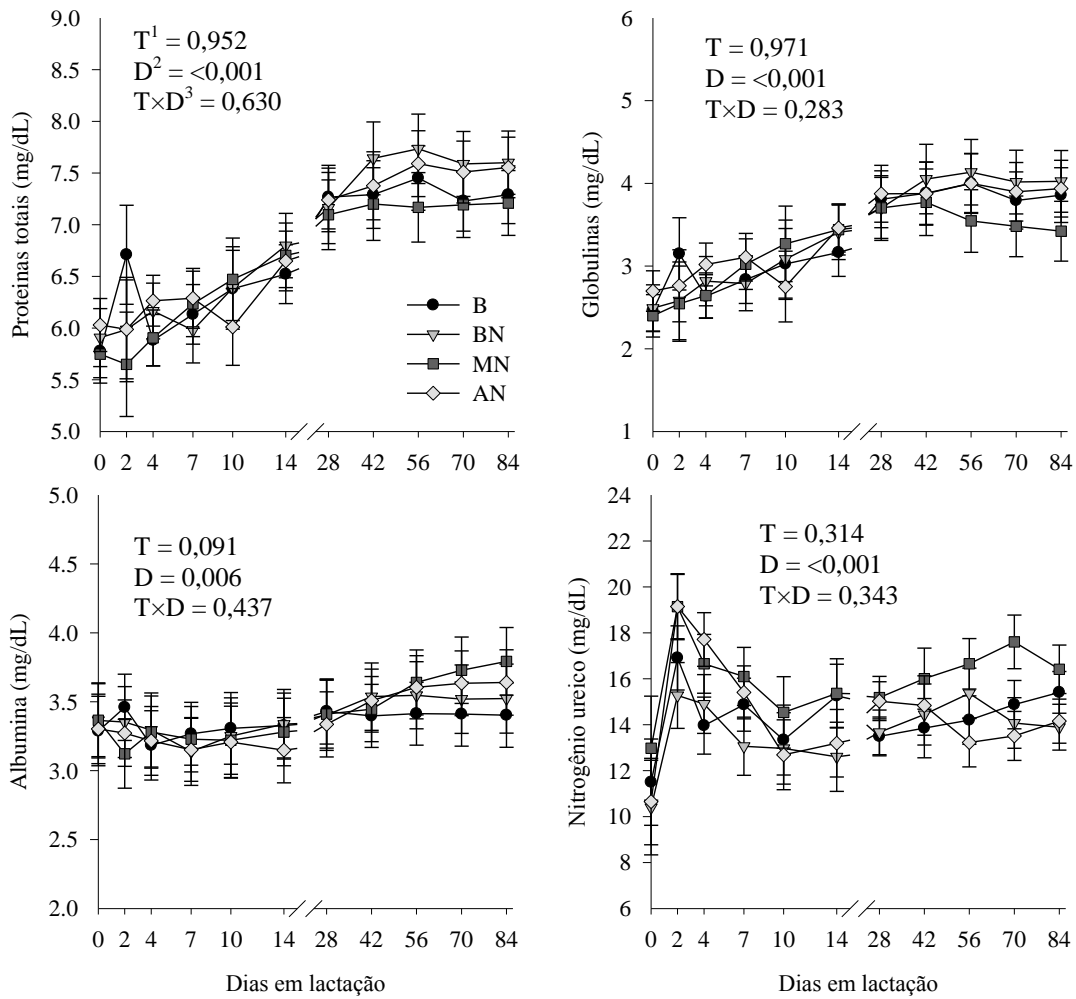
<sup>10</sup>BE= Balanço energético segundo NRC (2001),  $BE = CEL - (EL_M + EL_L)$ .

## Figuras

**Figura 1.** Médias semanais de consumo de matéria seca (A), energia metabolizável (B) e produção de leite (C) de vacas alimentadas com dieta a base de cana-de-açúcar suplementadas com níveis de óleo de soja de acordo com as semanas após o parto.

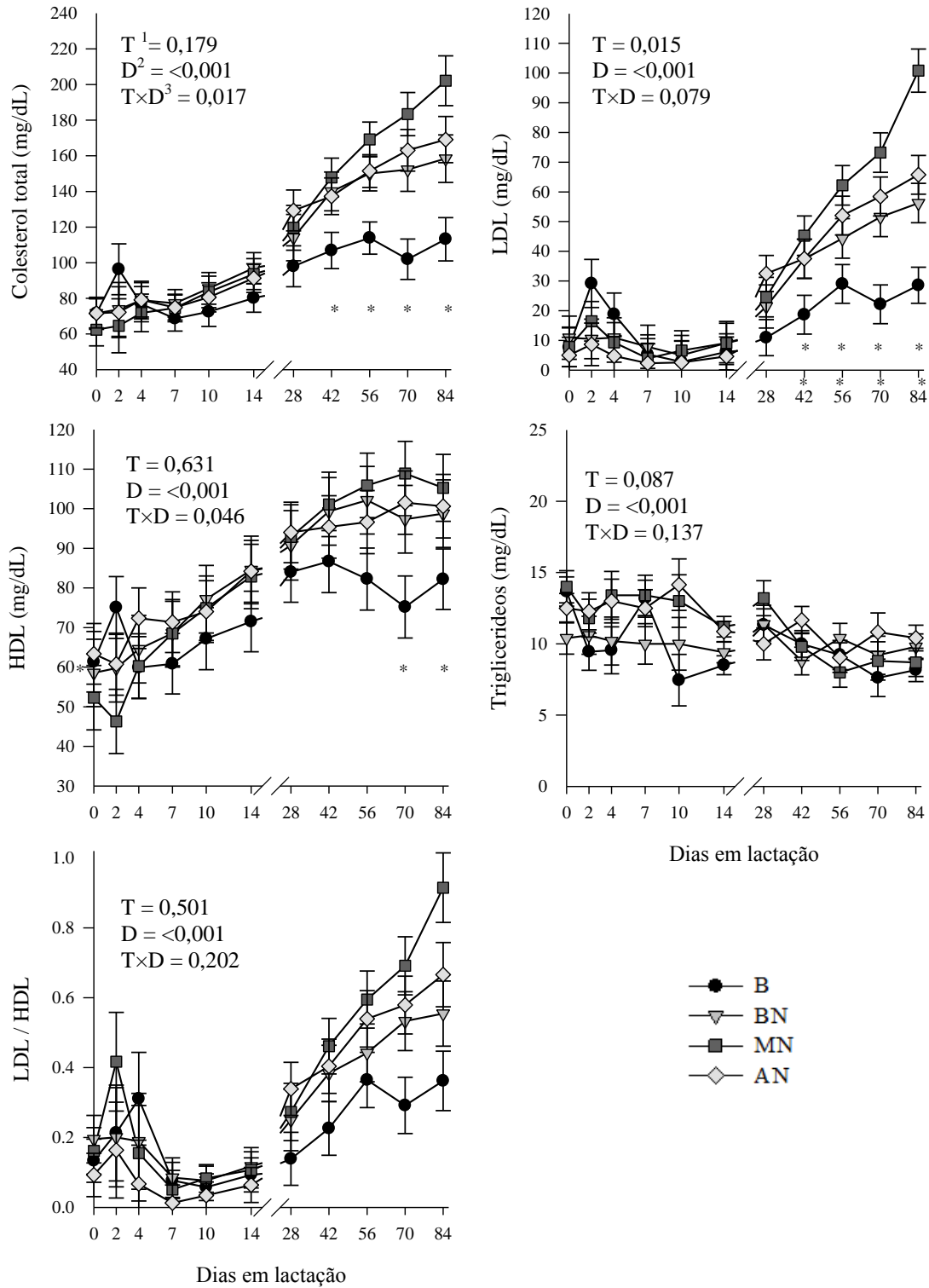


**Figura 2.** Níveis séricos de proteínas totais, albumina, globulinas e nitrogênio ureico de vacas alimentadas com dieta a base de cana-de-açúcar suplementadas com níveis de óleo de soja em função dos dias em lactação.



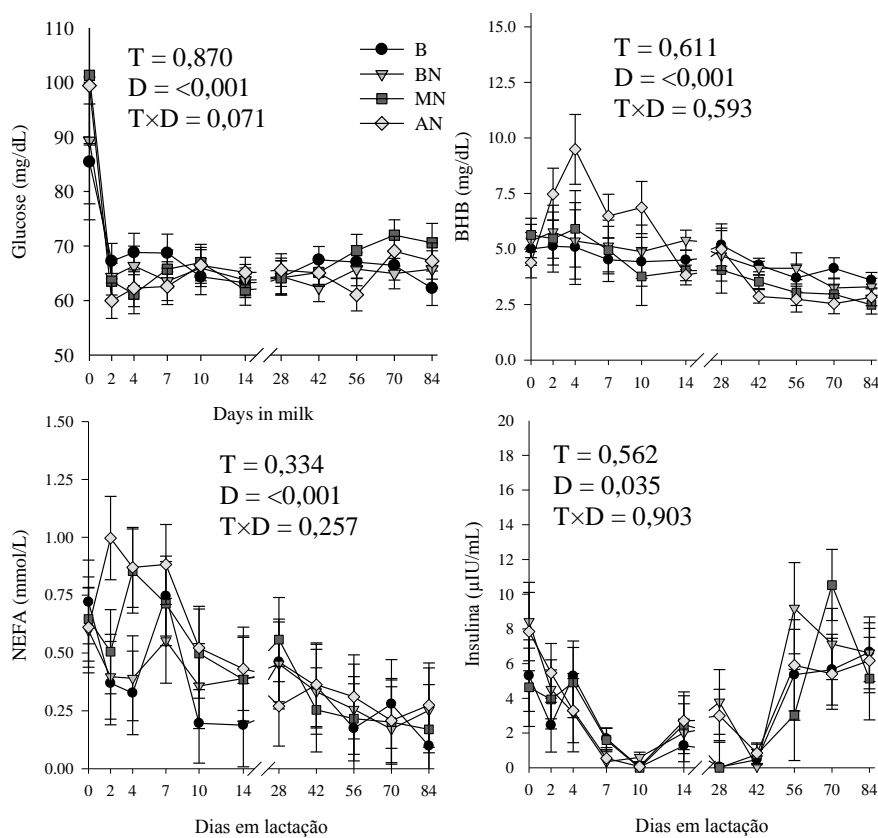
$T^1$  = Efeito de tratamento;  
 $D^2$  = Efeito de dias;  
 $T \times D^3$  = Efeito de interação entre tratamento e dias.

**Figura 3.** Níveis séricos de colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), triglicerídeos e relação LDL/HDL de vacas alimentadas com dieta a base de cana-de-açúcar suplementadas com níveis de óleo de soja em função dos dias em lactação.



$T^1$  = Efeito de tratamento;  
 $D^2$  = Efeito de dias;  
 $T \times D^3$  = Efeito de interação entre tratamento e dias.

**Figura 4.** Níveis sanguíneos de glicose, beta-hidroxi-butirato (BHB), ácidos graxos não esterificados (NEFA) e insulina de vacas alimentadas com dieta a base de cana-de-açúcar suplementadas com níveis de óleo de soja em função dos dias em lactação.



$T^1$  = Efeito de tratamento;

$D^2$  = Efeito de dias;

$T \times D^3$  = Efeito de interação entre tratamento e dias.