



RICARDO PEIXOTO DE MELO

**SUPLEMENTAÇÃO COM GORDURA INERTE
RICA EM ÁCIDO PALMÍTICO PARA VACAS
LEITEIRAS EXPOSTAS AO CALOR**

LAVRAS – MG

2016

RICARDO PEIXOTO DE MELO

**SUPLEMENTAÇÃO COM GORDURA INERTE RICA EM ÁCIDO
PALMÍTICO PARA VACAS LEITEIRAS EXPOSTAS AO CALOR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Marcos Neves Pereira

LAVRAS – MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Melo, Ricardo Peixoto de.

Suplementação com gordura inerte rica em ácido palmítico
para vacas leiteiras expostas ao calor / Ricardo Peixoto de Melo.

– Lavras : UFLA, 2016.

81 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras,
2015.

Orientador: Marcos Neves Pereira.

Bibliografia.

1. Ácido Palmítico. 2. Estresse por calor. 3. Gado de leite. 4.
Gordura saturada. 5. Óleo de palma. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

RICARDO PEIXOTO DE MELO

**SUPLEMENTAÇÃO COM GORDURA INERTE RICA EM ÁCIDO
PALMÍTICO PARA VACAS LEITEIRAS EXPOSTAS AO CALOR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 06 de agosto de 2015.

Dr. Márcio Machado Ladeira	UFLA
Dra. Renata Apocalypse N. Pereira	EPAMIG - Lavras/MG
Dr. Gustavo Augusto Andrade	IFE SUL DE MINAS – Machado/MG

Dr. Marcos Neves Pereira
Orientador

LAVRAS – MG

2015

Dedico

À minha esposa Leandra.... por tudo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Maria Dilma e Amador e aos meus irmãos Kariny e Otton.

À minha vó Clélia, pelo exemplo.

Aos meus tios Aldo e Goreti minha eterna gratidão.

Ao Professor Marcos por sua grande contribuição na minha vida profissional, por me receber mais uma vez no Grupo do Leite e por mais esta oportunidade.

Ao Grupo do Leite. Essa turma é boa!

Ao Carlinhos, Sr. Antonio, Tião e Adriana da Fazenda São Francisco.

Ao Lívio Molina, pela amizade e pelo incentivo.

Ao ReHAgro, em especial ao Fábio e ao Clóvis, pelo apoio.

RESUMO

Vacas em estresse por calor reduzem o consumo de matéria seca (CMS) e a produção de leite. Fontes de gordura com alta proporção de ácidos graxos saturados podem aumentar o teor energético da dieta, sem deprimir a síntese mamária de gordura. Foi avaliada a resposta de vacas leiteiras à suplementação de uma dieta basal contendo óleo oriundo de caroço de algodão e soja integral tostada com duas fontes de óleo de palma durante o verão. Trinta vacas receberam uma dieta de padronização por 14 dias, foram bloqueadas por ordem de parto e produção de leite e alocadas a um tratamento por 63 dias. Os tratamentos foram: Controle (C, dieta basal), Lacfat[®] (L, dieta C acrescida de óleo de palma fracionado) ou sal de cálcio de óleo de palma (S, dieta C acrescida de sal de cálcio de óleo de palma). O teor de extrato etéreo da dieta foi 7,3 % da MS em C e 8,4 % em L e S. Em S houve redução na frequência respiratória e temperatura retal comparativamente a C, mas L reduziu apenas a temperatura retal. A taxa de sudorese e parâmetros gasométricos do sangue venoso foram similares entre tratamentos. As fontes de gordura de palma aumentaram a produção de leite (31,0 vs. 30,1 kg/d) e reduziram o CMS (19,2 vs. 19,9 kg/d), aumentando a eficiência alimentar (1,65 vs. 1,54). As secreções diárias de gordura e lactose aumentaram em S, enquanto L induziu ganho na secreção de gordura. A concentração plasmática de glicose foi similar entre tratamentos, bem como a digestibilidade aparente no trato digestivo total do extrato etéreo e da fibra em detergente neutro. A relação entre acetato e propionato no fluido ruminal foi maior em L que em S. A suplementação de vacas leiteiras alimentadas com dieta basal contendo alto teor lipídico oriundo de oleaginosas com óleo de palma aumentou a eficiência alimentar, por aumentar a produção de leite e de sólidos em menor CMS.

Palavras-chave: Ácido Palmítico. Estresse por calor. Gado de leite. Gordura saturada. Óleo de palma. Sal de cálcio.

ABSTRACT

Heat stressed cows have decreased dry matter intake (DMI) and milk yield. The supplementation of fat sources rich in saturated fatty acid can increase the energy density of the diet, without reducing fat synthesis by the mammary gland. We evaluated the response of dairy cows to the supplementation of a basal diet containing oil from whole cottonseed and whole roasted soybeans with two palm oil sources during summer. Thirty cows received a standardization diet for 14 days, formed 10 blocks by lactation order and milk yield, and were assigned to a treatment for 63 days. Treatments were: Control (C, basal diet), Lacfat[®] (L, control diet plus fractionated palm oil), or calcium salt of palm oil (S, control diet plus calcium salt of palm oil). The ether extract concentration of the diet was 7.3 % of DM in C and 8.4 % in L and S. There were reductions in respiratory rate and rectal temperature in S compared to C, but L reduced only the rectal temperature. The sweating rate and gasometric blood parameters were similar among treatments. The sources of palm oil increased milk yield (31.0 vs. 30.1 kg/d) and reduced DMI (19.2 vs. 19.9 kg/d), increasing feed efficiency (1.54 vs. 1.65). The daily secretions of fat and lactose were increased by S, and L increased fat secretion. Plasma glucose concentration was similar among treatments, as well as the total tract apparent digestibilities of ether extract and neutral detergent fiber. The acetate to propionate ratio in ruminal fluid was greater for L compared to S. The supplementation of dairy cows fed a basal diet of high fat concentration from oilseeds with palm oil increased feed efficiency, by increasing milk and solids yield in reduced DMI.

Keywords: Calcium salt. Dairy cattle. Heat stress. Palm oil. Palmitic Acid. Saturated fat.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Rotas padrão () e alternativa (---) da biohidrogenação do ácido linoléico (C18:2, c9, c12)	28
Figura 2	Biohidrogenação do ácido oleico (C18:1, c9).....	30
Figura 3	Índice de Temperatura e Umidade (ITU) a cada 30 minutos durante o experimento	45
Figura 4	Teor de glicose no plasma nos tratamentos Controle (56,6 mg/dL), Lacfat (55,5 mg/dL) e sal de cálcio de óleo de palma (55,6 mg/dL)	63
Figura 5	Peso vivo nos tratamentos Controle (616 kg), Lacfat (617 kg) e sal de cálcio de óleo de palma (618 kg).....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Perfil de ácidos graxos (AG) em gramas por 100 gramas de AG total em fontes de origem vegetal	23
Tabela 2	Perfil de ácidos graxos (AG) gramas por 100 gramas de AG total em fontes de origem animal	25
Tabela 3	Índice de Temperatura e Umidade (ITU), temperatura e umidade no centro do estábulo obtido por 3024 mensurações a cada 30 minutos durante as 9 semanas do experimento	44
Tabela 4	Composição das dietas consumidas nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S). % da matéria seca	47
Tabela 5	Composição e perfil de ácidos graxos (AG) das fontes de gordura Lacfat e sal de cálcio de óleo de palma	48
Tabela 6	Frequência respiratória e temperatura retal semanal e sudorese a cada 14 dias nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S).....	56
Tabela 7	Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica digestível (CMOD), desempenho leiteiro, N-uréico no leite (NUL), eficiência alimentar, ECC e peso vivo nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S). Dados obtidos ao longo de 9 semanas ajustado para covariável	57
Tabela 8	Digestibilidade aparente no trato digestivo total da MS (DMS), da MO (DMO), da FDN (DFDN), da MO não-FDN (DMOnFDN), do amido (DAmido), do extrato etéreo (DEE) e da fração MO – (FDN + Amido + EE) (DPC) nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S). % do ingerido	58

Tabela 9	Atividade mastigatória, comportamento ingestivo e tempo de decúbito nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S).....	60
Tabela 10	Balanço ácido-base do sangue venoso nas semanas 2, 4, 6 e 8 nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S).....	62
Tabela 11	Ácidos graxos voláteis (AGV) e protozoários no fluido ruminal e excreção de alantoína na urina (Ala) nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S).....	66

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Caracterização do ambiente térmico	15
2.2	Termorregulação	18
2.3	Metabolismo de vacas leiteiras em estresse por calor	20
2.4	Fontes de gordura para vacas leiteiras	22
2.5	Metabolismo de lípides no rúmen	27
2.6	Fermentação ruminal e digestibilidade da fibra	31
2.7	Consumo de matéria seca	35
2.8	Desempenho animal	37
2.9	Gordura para vacas em estresse por calor	41
3	MATERIAL E MÉTODOS	44
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de estresse por calor reduz os desempenhos produtivo e reprodutivo e tem impacto negativo sobre a longevidade de vacas leiteiras, causando prejuízo à indústria láctea mundial (SAINT-PIERRE; COBANOV; SCHNITKEY, 2003). Vacas sob estresse por calor têm depressão no consumo de matéria seca (CMS) (BEEDE; COLLIER, 1986), alterações endócrinas e no metabolismo energético (RHOADS et al., 2009; WHEELLOCK et al., 2010) e maior exigência nutricional de manutenção (FOX; TYLUTKI, 1998), o que pode resultar em balanço energético negativo (BEN), mesmo com menor produção de leite (MOODY et al., 1967). O estresse calórico também aumenta a propensão à acidose ruminal em decorrência da menor capacidade tamponante da saliva (SCHNEIDER et al., 1984), do menor tempo de ruminação (SORIANI; PANELLA; CALLAMARI, 2013) e das quedas na motilidade do rúmen (SILANIKOVE; TADMORE, 1989), na taxa de passagem da digesta (BERNABUCCI et al., 1999; CHRISTOPHERSON; KENEDY, 1983; SCHNEIDER; BEEDE; WILCOX, 1988) e no fluxo sanguíneo para o trato digestivo (HALES et al., 1984; MCGUIRE et al., 1989).

Estratégias nutricionais têm sido adotadas para aliviar o efeito indesejável do excesso de calor sobre a produtividade animal (WEST, 2003). A suplementação de vacas leiteiras sob estresse calórico com gordura tem sido recomendada de longa data (MOODY et al., 1967). A suplementação lipídica pode aumentar a densidade energética da dieta, mas sem induzir o acúmulo intraruminal de ácidos orgânicos e sem gerar calor de fermentação (JENKINS; JENNY, 1989), sendo uma forma de suprir energia sem induzir acidose ruminal ou aumento no incremento calórico (WANG et al., 2010).

O uso de fontes lipídicas ricas em ácidos graxos insaturados pode afetar negativamente a função ruminal (PALMIQUIST; CONRAD, 1978), reduzindo a

digestibilidade da fibra (LUCAS; LOOSLI, 1944; SMITH; DUNKLEY; FRANKE, 1978), além de poder induzir queda severa na secreção de gordura do leite (MOHAMED et al., 1988). A suplementação lipídica de vacas leiteiras, especialmente quando em alto teor dietético, exige a adoção de fontes que não prejudiquem a função ruminal. Sementes de oleaginosas ricas em ácidos graxos insaturados com processamento grosseiro ou como grãos inteiros são normalmente adotadas como primeira opção de suplementação lipídica, em decorrência do menor custo por unidade de energia que fontes lipídicas industriais. Esses alimentos também contêm outros nutrientes além de energia na forma de gordura, como proteína e fibra efetiva. Em oleaginosas pouco processadas a liberação lenta dos ácidos graxos insaturados no ambiente ruminal é compatível à taxa de saturação dos mesmos pelos microrganismos (BAUMAN; GRIINARI, 2001), o que torna o lípide inerte no rúmen. A inclusão de 15 a 20% na matéria seca (MS) da dieta de soja integral tostada ou caroço de algodão (equivalente a cerca de 3% da dieta de ácidos graxos oriundos das oleaginosas) não afetou os microrganismos ruminais ou o teor de gordura no leite (DEPETERS et al., 1985; KNAPP; GRUMMER; DENTINE, 1991).

A suplementação com gordura rica em ácidos graxos saturados é outra estratégia de suplementação de gordura inerte no rúmen. Fontes lipídicas com alta proporção de ácidos graxos saturados propiciam o aumento dos lípides da dieta a teores acima do obtível apenas com sementes de oleaginosas (ELLIOTT; DRACKLEY; WEIGEL; 1996; GRUMMER, 1988). Entretanto, o uso de gordura saturada de origem animal, como o sebo, é proibido no Brasil, como medida de controle do Mal da Vaca Louca (BRASIL, 2004). A gordura saturada oriunda de óleo de palma (*Elaeis guineensis*) é plausível de ser utilizada e normalmente é rica em ácidos palmítico (C16:0) e oléico (C18:1). O uso de uma fonte rica em ácido palmítico (84,8% C16:0) aumentou a produção de gordura e lactose, a produção de leite e a eficiência alimentar comparado ao sal de cálcio

de óleo de palma (48% C16:0, 36% C18:1) (RICO; YING; HARVATINE, 2014b). Comparado com suplemento rico em ácido esteárico (97% C18:0) o ácido palmítico (97% de C16:0) em ausência de estresse por calor aumentou o teor de glicose plasmática e a produção de leite (RICO; ALLEN; LOCK, 2014). A eficiência de utilização do C16:0 para a síntese de gordura pela glândula mamária foi maior em relação a C18:1 e C18:0 (ENJALBERT et al., 2000). Menor demanda de glicose e acetato para a síntese de gordura pode aumentar a disponibilidade desses substratos para outras rotas metabólicas (CANT; DEPETERS; BALDWIN, 1993). Essas fontes lipídicas podem ser benéficas para vacas em estresse por calor, sujeitas a BEN e com maior dependência de glicose como substrato energético (BAUMGARD et al., 2011; SALVATI et al., 2015).

O objetivo deste experimento foi avaliar o desempenho produtivo, a digestibilidade de nutrientes em vacas expostas ao calor e alimentadas com duas fontes de gordura inerte no rúmen, oriundas de óleo de palma, acrescidas a uma dieta basal contendo lípidos oriundos de oleaginosas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Caracterização do ambiente térmico

O ambiente térmico interfere no desempenho animal e seu impacto sobre a produção pode ser avaliado pela temperatura ambiental efetiva (TAE) (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981). O termo TAE deve ser entendido como um conceito, uma vez que a sua utilização para estabelecer os limites do ambiente térmico pode envolver outros parâmetros, como o Índice de Temperatura e Umidade (ITU).

A resposta animal à variação na TAE pode ser avaliada pelas zonas do ambiente térmico. A zona da termoneutralidade corresponde à amplitude de variação na TAE onde o animal mantém a temperatura corporal, igualando a produção de calor à perda de calor para o ambiente (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981). Nesse caso, a taxa de produção de calor é constante e nenhum mecanismo para dissipação de calor é acionado (Zona de conforto). Entretanto, podem ocorrer ajustes fisiológicos mínimos, como incremento na taxa metabólica (Zona de frio) ou ativação da perda sensível de calor (Zona de calor), sem caracterizar estresse por frio ou calor, respectivamente. Segundo Igono, Bjotvedt e Sanford-Crane (1992), a TAE a partir da qual a produção de calor aumenta para manter o balanço de calor é denominada temperatura crítica inferior (TCI), enquanto a temperatura máxima a partir da qual os mecanismos de dissipação evaporativos são acionados é denominada temperatura crítica superior (TCS). O ambiente térmico caracterizado por TAE abaixo da TCI é definido como estresse por frio, enquanto TAE acima da TCS é definido como estresse por calor (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981).

Berman et al. (1985) e Igono, Bjotvedt e Sanford-Crane (1992), trabalhando com vacas produzindo cerca de 30 kg de leite/dia, propuseram que

temperaturas entre 25 e 27°C estariam próximas do limite para a ocorrência de estresse calórico nos desertos do Arizona e de Israel, respectivamente. O NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981) sugere a utilização de valores de temperatura do ar entre 5 e 25°C como limites da zona termoneutra para vacas leiteiras.

Entretanto, o ambiente térmico é caracterizado pela combinação de temperatura do ar, umidade relativa do ar (UR), radiação solar e velocidade do vento. As condições ambientais determinantes do estresse calórico não são restritas à temperatura. Bohmanova, Misztal e Cole (2007) associaram valores de temperatura a partir de 23°C como indutora de estresse calórico no estado da Geórgia (clima quente e úmido) com UR de 75%, enquanto no Arizona (clima quente e seco) a temperatura foi de 30°C com UR de 25%.

O ITU, por incorporar os efeitos da temperatura e da UR, tem sido considerado um bom parâmetro para a definição da zona de conforto em vacas leiteiras (ARMSTRONG, 1994; IGONO; BJOTVEDT; SANFORD-CRANE, 1992; ZIMBELMAN et al., 2009). Segundo Zimbelman et al. (2009), o ITU surgiu na década de 50 e foi adaptado para vacas leiteiras. Foram identificadas oito fórmulas para o cálculo do ITU, variando em relação à espécie estudada e à ponderação dada aos valores de temperatura e umidade, sendo que algumas equações foram desenvolvidas empiricamente (BOHMANOVA; MISZTAL; COLE, 2007; DIKMEN; HANSEN, 2009).

Os critérios propostos para o uso do ITU têm sido estabelecidos de acordo com a sua relação com a temperatura retal ou a resposta animal em produção de leite. Igono, Bjotvedt e Sanford-Crane (1992) avaliando 4.400 vacas Holandês com produção em torno de 30 kg/d observaram redução de 0,158 kg/d por unidade de aumento no ITU acima de 72. Alguns autores têm utilizado a temperatura retal para definir os parâmetros de ITU (DIKMEN; HANSEN, 2009). Temperatura retal acima de 39°C tem sido associada à queda

na produção de leite e no desempenho reprodutivo de vacas leiteiras (IGONO et al., 1985, 1987). No trabalho de Dikmen e Hansen (2009), na Flórida (clima quente e úmido), ITU acima de 78 foi associado à temperatura retal acima de 39°C. Entretanto, Bohmanova, Misztal e Cole (2007), na Geórgia (clima quente e úmido), considerando a produção de leite como critério para estabelecer o limite do ITU, observaram queda na produção de leite quando o ITU foi superior a 72. A diferença entre esses valores pode ser justificada pelo fato de a temperatura retal ser mantida constante nas fases iniciais do desafio térmico e, nesse caso, subestimar a ocorrência de estresse calórico em um dado ambiente.

Zimelman et al. (2009), analisando dados de oito estudos realizados ao longo de três anos em ambiente controlado, avaliaram o efeito do ITU sobre a produção de leite, a TR, a taxa de sudorese e a FR de vacas leiteiras. O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros de ITU utilizando animais com produção de leite de 35 kg/d, mais próximos ao que ocorre em fazendas comerciais. Foram utilizados ciclos com variação na temperatura e na luminosidade ao longo do dia. Os diferentes ambientes foram simulados em amplitudes de temperatura de 8,0 a 20,0°C com UR de 8 a 40% para o ambiente termoneutro, e 29,4 a 40,0°C e 30 a 40% UR para o ambiente de estresse calórico. O aumento do ITU foi acompanhado de aumento nos indicadores de estresse térmico e redução na produção de leite, que caiu linearmente para o intervalo de ITU de 60 a 80. A produção de leite foi significativamente reduzida, em média 2,2 kg/d, quando o ITU mínimo, ao longo de 24 horas, foi superior a 64 ou quando o ITU foi superior a 68 por mais de 17 horas.

O uso do ITU de 68 parece mais coerente para animais mais produtivos e com maior propensão ao estresse por calor do que o valor de 72 (IGONO; BJOTVEDT; SANFORD-CRANE, 1992). O ITU de 72, utilizado durante décadas como parâmetro para caracterizar o ambiente como indutor de estresse,

foi determinado na década de 50 com animais de baixa produção, utilizando um modelo inicialmente desenvolvido para humanos (BERMAN, 2005).

2.2 Termorregulação

Em animais homeotérmicos a temperatura corporal é mantida com pequenas variações. Em bovinos leiteiros a variação diurna está em torno de 0,5°C, com temperatura regularmente mais alta à tarde (SWENSON; REECE, 1996). A temperatura retal tem sido utilizada para definir os parâmetros de normalidade para cada espécie, embora não corresponda exatamente à temperatura corporal profunda. Knapp e Grummer (1991), trabalhando com vacas da raça Holandês produzindo 34,9 kg de leite por dia e mantidas em câmara climática na zona termoneutra, encontraram temperatura retal de 38,5°C avaliada às 16 horas. Berman et al. (1985), avaliando rebanho comercial no inverno de Israel, com temperatura do ar de 10 a 24°C, encontraram temperatura retal de 38,8°C para vacas da raça Holandês com produção de leite corrigido para gordura acima de 29,7 kg/d.

O equilíbrio térmico ocorre quando o ganho de calor é igual à perda para o ambiente (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981). Quando a resultante do equilíbrio está acima ou abaixo dos limites normais da temperatura corporal os mecanismos regulatórios são acionados. A perda de calor ocorre de forma sensível por radiação, convecção e condução, e de forma latente por evaporação da água através da respiração e da sudorese (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981). As perdas sensíveis dependem do gradiente de temperatura entre a superfície da pele e o ar, a máxima eficiência ocorre em temperaturas abaixo da TCS, enquanto as perdas latentes são mais importantes em temperaturas acima desse limite (BERMAN et al., 1985).

Em resposta ao estresse por calor, vacas leiteiras aumentam a vasodilatação periférica, a frequência respiratória (FR) e a taxa de sudorese (WEST, 2003). A FR está em torno de 21 movimentos por minuto (mov/min) na zona de conforto (KNAPP; GRUMMER, 1991), e pode alcançar 107 mov/min em situações de estresse calórico severo (DIKMEN et al., 2008).

A tolerância ao estresse calórico pode variar com o peso corporal e o estágio fisiológico do animal (KADZERE et al., 2002). Araki et al. (1984) observaram que vacas em início e meio de lactação apresentaram maior temperatura retal em relação a vacas não lactantes. Segundo West (2003), novilhas apresentaram maior tolerância ao estresse térmico, devido a menor produção de calor metabólico e a maior relação entre a superfície e a massa corporal, o que aumenta a capacidade de dissipação de calor.

Quando o ambiente térmico é suficientemente estressante a ponto de suplantarem os mecanismos fisiológicos de dissipação de calor, o animal perde a capacidade de manter a temperatura corporal. Neri (2013) trabalhou com vacas Holandês em meio de lactação com produção de 25,0 kg/d de leite. O estudo foi realizado nos meses de verão em sistema de confinamento na região sul do estado de Minas Gerais e o ITU foi acima de 68 por 21 h diárias acima do limite de estresse por calor, proposto por Zimbelman et al. (2009). A temperatura vaginal foi avaliada com termômetros acoplados a dispositivos intravaginais de CIDR (sem hormônio) que registravam a temperatura a cada 30 min ao longo de 24 h durante 5 dias. A temperatura média ao longo das 24 h foi 38,1 °C com mínima de 37,1°C e alcançou uma máxima de 39,8°C às 18 h limite proposto por Igono et al. (1985, 1987) como indicativo de estresse por calor. Nesse caso, a utilização da temperatura média pode não ser um bom indicativo da ocorrência de estresse por calor, pois pode não representar os períodos ao longo das 24 h em que a temperatura ultrapassou o limite 39,0°C.

2.3 Metabolismo de vacas leiteiras em estresse por calor

Vacas em estresse por calor reduzem o CMS e a produção de leite e aumentam a FR e a taxa de sudorese (WEST, 2003). A redução na produção de leite tem sido atribuída ao menor CMS (KADZERE et al., 2002; WEST, 2003). Entretanto, a queda no CMS foi responsável por apenas 35% da redução na produção de leite (RHOADS et al., 2009).

Rhoads et al. (2009) avaliaram o consumo, o desempenho e o metabolismo de vacas da raça Holandês com 80 a 140 dias em lactação e produção de leite acima de 30 kg/d em câmaras climáticas. Os animais foram divididos em dois grupos e submetidos a dois períodos experimentais com duração de sete dias cada. No primeiro período (P1), os dois grupos foram alimentados *ad libitum* e mantidos em condição termoneutra (TN) com 20,0°C de temperatura e 20% de UR, correspondente a ITU de 64, constante ao longo de 24 h, com 12 h de luz e 12 h de escuro. No segundo período (P2), o grupo 1 (G1) foi mantido nas mesmas condições (TN), enquanto o grupo 2 (G2) foi submetido a estresse por calor (EC), caracterizado por 29,4 a 38,9°C de temperatura ambiente e UR de 20%. O ITU para o G2 foi mantido em 73 de 00:h às 07 h, após esse período aumentou gradualmente, alcançando 82 entre 13: e 15 h, e depois declinou novamente até retornar ao valor de 73 às 23 h. No P2 o G2 foi alimentado *ad libitum* e a redução na ingestão diária foi determinada como proporção do consumo observado no P1. O G1 recebeu alimentação restrita proporcional à redução de consumo observada para o G2. O consumo reduziu para os dois grupos em relação ao P1 e foi idêntico entre os grupos no P2, em razão do delinamento. Entretanto, a produção de leite reduziu proporcionalmente em maior magnitude, para o grupo em estresse calórico, demonstrando que a redução no CMS explicou somente 35% da queda em produção de leite. Wheelock et al. (2010), em experimento similar,

demonstraram que a redução no CMS do G2 no P2 foi em torno de 30% do mensurado no P1, e o mesmo nível de CMS foi obtido para o G1 no P2. Entretanto, apesar do mesmo CMS, a queda na produção de leite foi de 9,56 kg/d para o G2 (EC) e de 4,79 kg/d para o G1 (TN). Nesse caso, apenas 50% da redução na produção de leite foi explicada pelo menor CMS. Esse mesmo resultado foi encontrado por Baumgard et al. (2011), sugeriram alterações no metabolismo pós-absortivo de vacas leiteiras em estresse calórico como possíveis causas para explicar o efeito negativo do calor sobre a produção de leite.

O menor CMS, associado ao aumento da exigência de manutenção (FOX; TYLUTKY, 1998; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981) em vacas em estresse por calor, induz a ocorrência de BEN (SHWARTZ et al., 2009), que pode explicar o menor desempenho produtivo e reprodutivo desses animais. Nos trabalhos de Baumgard et al. (2011), Rhoads et al. (2009) e Wheelock et al. (2010), o BEN no G2 foi induzido por estresse por calor e no G1 por restrição alimentar em conforto térmico.

O BEN observado no pós-parto imediato afeta, negativamente, a saúde de vacas leiteiras de alta produção e está associado ao aumento da concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no sangue (DRACKLEY, 1999). Entretanto, aumento de AGNE não foi observado nos animais em estresse por calor, apesar do BEN e da perda de peso (RHOADS et al., 2009; SHWARTZ et al., 2009; WHEELLOCK et al., 2010), comparado aos mesmos animais no P1 em condição termoneutra. Além disso, os animais em estresse por calor apresentaram menor concentração plasmática e maior taxa de utilização de glicose pelos tecidos periféricos (WHEELLOCK et al., 2010). Nesse caso, o aumento na concentração de insulina plasmática observado nas vacas em estresse por calor parece reduzir a taxa de lipólise e direcionar o uso de glicose para outros tecidos extramamários.

Segundo Baumgard et al. (2011), a lactose é o principal componente osmótico do leite e a redução da síntese de lactose pode ser responsável pela queda de produção em vacas sob estresse calórico. Rhoads et al. (2009) demonstraram que vacas sob estresse por calor produziram 370 g a menos de lactose por dia em relação aos animais com conforto térmico. Entretanto, a disponibilidade de glicose parece não ser o limitante da síntese de lactose. A taxa de produção de glicose, medida indireta da gliconeogênese, não diferiu para condição TN e EC (586,6 vs. 573,5 mmol/h, $P=0,43$, respectivamente) (BAUMGARD et al., 2011), indicando que parte da glicose produzida pode ter sido direcionada para outra finalidade metabólica.

2.4 Fontes de gordura para vacas leiteiras

Sementes de oleaginosas são normalmente utilizadas para suplementar gordura para vacas leiteiras (GRUMMER; LUCK; BARMORE, 1993). Apesar da alta proporção de AG insaturados, sementes integrais pouco processadas propiciam a liberação lenta da gordura no fluido ruminal, a taxa compatível à taxa de biohidrogenação dos lípidos insaturados pelos microrganismos do rúmen (DIAS JÚNIOR, 2011) (Tabela 1). O caroço de algodão e a soja integral tostada são fontes amplamente utilizadas. A inclusão desses alimentos na dieta de vacas leiteiras em teor de 3% da MS de EE oriundo das fontes não induziu efeito adverso sobre a fermentação ruminal ou sobre a secreção mamária de gordura (DEPETERS et al., 1985; KNAPP; GRUMMER; DENTINE, 1991).

Fontes com maior proporção de AG saturados como sebo hidrogenado, óleo de palma fracionado ou de menor solubilidade no fluido ruminal como os sais de cálcio de ácidos graxos, podem ser utilizados para obter maior teor dietético de gordura que o teor obtível apenas com oleaginosas, sem induzir efeito negativo sobre a fermentação ruminal. Os produtos comerciais são

referidos como fontes de gordura inerte no rúmen, ou comercialmente como gordura protegida ou sobrepastante, normalmente contendo de 80 a 99% de EE, e disponíveis na forma de grânulos sólidos para facilitar o manuseio e a mistura com outros ingredientes (SUKSOMBAT, 2009).

Tabela 1 Perfil de ácidos graxos (AG) em gramas por 100 gramas de AG total em fontes de origem vegetal

	CA ¹	SIT ²	ML ³	ML-R ⁴	BF-100 ⁵
C14:0 Mirístico	0,8	-	1,8	2,2	1,2
C16:0 Palmítico	24,2	14,5	20,0	47,1	80,5
C18:0 Esteárico	1,9	3,1	5,5	3,8	4,0
C18:1 Oléico	14,7	21,6	30,3	37,8	11,2
C18:2 Linoléico	57,9	53,2	38,9	8,1	2,0
C18:3 Linolênico	0,1	7,6	2,6	-	-
Outros	0,4	-	0,9	1,0	1,1
Total saturado	26,9	17,6	27,3	53,1	85,5

1 Caroço de algodão - Mohamed et al. (1988)

2 Soja integral tostada – Knapp, Grummer e Dentine (1991)

3 MegalacR - Sal de cálcio de óleo de soja – Dias Júnior (2011)

4 Megalac - Sal de cálcio de óleo de palma – Elliott, Drackley e Weigel (1996)

5 Bergafat-100 óleo de palma fracionado – Rico, Ying e Harvatine (2014b)

Os sais de cálcio feitos com óleo vegetal tradicionalmente são oriundos da palma ou soja. O óleo de soja é rico em AG insaturados, predominantemente oléico e linoléico, enquanto o óleo de palma possui alta proporção de ácido palmítico e oléico. O óleo bruto de palma é rico em triglicerídeos que diferem em sua composição em ácidos graxos tornando o fracionamento possível por diferença no ponto de fusão entre os triglicerídeos. As principais frações obtidas

do óleo de palma são a oleína (líquida) e a estearina (sólida) que podem ser fracionadas novamente de acordo com a composição em AG do produto desejado. Existem pelo menos 5 tipos de oleína e 3 tipos de estearina disponíveis para a indústria alimentícia humana e animal. O isolado de ácidos graxos saturados de palma utiliza uma estearina com alta proporção de ácido palmítico, é um produto em pó granulado “prilled” rico em ácidos graxos livres.

O sebo *in natura* é outra fonte de gordura rica em AG saturados, mas que possui menor proporção de saturados que gorduras industriais (Tabela 2). Além da forma *in natura*, o sebo pode ser encontrado como sal de cálcio, parcial ou completamente hidrogenado, ou incorporado em misturas com o óleo de palma fracionado, resultando em um produto granulado com alta proporção de AG livres saturados. Entretanto, no Brasil o uso de produtos de origem animal para alimentação de ruminante é proibido, desde 2004, como parte da estratégia de controle da Encefalopatia Espongiforme Bovina - “Mal da Vaca Louca” (BRASIL, 2004).

O conceito dos sais de cálcio surgiu na década de 50 em trabalhos onde a adição de cálcio oriundo da cinza de alfafa a uma dieta com óleo livre de milho reduziu o efeito negativo do óleo sobre a digestibilidade da fibra, em razão da formação de sais insolúveis no rúmen (BROOKS; GARNER; GEHRKE, 1954). A ligação do cálcio ao grupo carboxil do AG reduz sua solubilidade no fluido ruminal diminuindo o efeito tóxico e, ao mesmo tempo, limita a extensão biohidrogenação dos AG insaturados. Um sal de cálcio ideal é aquele estável no pH do rúmen que dissocie no pH baixo do abomaso e terço inicial do intestino permitindo a absorção dos AG livres (PALMQUIST; JENKINS; JOYNER JÚNIOR, 1986).

Tabela 2 Perfil de ácidos graxos (AG) gramas por 100 gramas de AG total em fontes de origem animal

	Sebo ¹	SPH ²	SH ³	EB ⁴
C14:0 Mirístico	2,4	1,6	4,3	1,3
C16:0 Palmítico	30,2	26,9	29,9	54,0
C18:0 Esteárico	15,4	39,2	53,4	34,0
C18:1 Oléico	43,3	29,9	9,0	8,0
C18:2 Linoléico	5,9	-	-	1,2
C18:3 Linolênico	0,7	-	-	-
Outros	2,1	2,4	3,4	1,5
Total saturado	48,0	67,7	87,6	89,3

1 Palmquist e Conrad (1980)

2 Alifet, Sebo parcialmente hidrogenado granulado “Prilled” – Drackley e Elliott (1993)

3 Sebo hidrogenado granulado “Prilled” – Elliott, Overton e Drackley (1994)

4 Energy Booster-100, mistura de sebo e óleo de palma hidrogenados – Wang et al. (2010)

A estabilidade do sal pode ser definida como a capacidade de manutenção do cálcio ligado à molécula do AG e é altamente influenciada pelo pH do ambiente ruminal. Os AG em solução encontram-se na forma protonada ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$) ou ionizada ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COO}^- + \text{H}^+$). As proporções das partes são determinadas pela constante de dissociação K e pelo pH do fluido ruminal expressos pela equação de Handerson-Hasselbalch, em que $\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{A}^-] / [\text{AH}]$ e $\text{pK} = -\log K$. Para a relação $[\text{A}^-] / [\text{AH}] = 1$ tem-se o $\text{pH} = \text{pK}$ e as formas estão em proporções idênticas na solução. A ligação da molécula de cálcio para a formação do sal ocorre com a forma ionizada do ácido. Portanto, ambiente ruminal favorável à dissociação do ácido propicia maior estabilidade ao sal. Para um AG com pK 4, a relação $[\text{A}^-] / [\text{AH}]$ será 100/1 no pH 6, 10/1 no pH 5 e 1/1 no pH 4 utilizando a equação de Handerson-Hasselbalch.

Sukhija e Palmquist (1990) avaliaram *in vitro* a estabilidade dos sais de cálcio de ácido esteárico, sebo, óleo de palma e óleo de soja. A estabilidade foi avaliada em solução tamponada, contendo 5% dos sais em pH 5,0, 5,5, 6,0 e 6,5. Os valores de pK estimados foram 4,5, 4,5, 4,6 e 5,6, respectivamente, para esteárico, sebo, palma e soja. A dissociação foi menor que 10% no pH 5,5 para todos os sais, exceto o de soja que apresentou a menor estabilidade e no pH 5,5 estava 50% dissociado.

A extensão de biohidrogenação pode ser uma medida indireta da estabilidade do sal no rúmen. Wu e Palmquist (1991), em estudo *in vitro*, utilizaram sal de cálcio de óleo de palma em inclusões de 0, 3, 6 e 12% na MS. A taxa de biohidrogenação reduziu linearmente com o aumento da inclusão sal de cálcio e foi, em média, de 47%. Entretanto, Wu, Ohajuruka e Palmquist (1991), utilizando cinco vacas Holandês em meio de lactação e com produção de leite de $20,1 \pm 0,4$ kg/dia, canuladas no rúmen e no duodeno, observaram que a extensão da biohidrogenação foi de 67,4, 58,3 e 53,0% utilizando sal de cálcio de óleo de palma a 0, 3 e 6% na MS. Esse valor foi maior que o observado *in vitro* pelos mesmos autores, indicando que, na amplitude de variação do pH *in vivo*, a estabilidade é menor em relação ao sistema *in vitro* tamponado e com pH mais constante.

Um efeito similar foi observado por Chalupa et al. (1984, 1986) utilizando sal de cálcio de sebo. A relação acetato proprionato (A/P) não foi afetada *in vitro*, mas reduziu em 16% para novilhas alimentadas com 7% na MS do sal de cálcio de sebo. Os resultados indicam que sais oriundos de fontes mais saturadas e tidos como mais estáveis no rúmen (JENKINS; PALMQUIST, 1982) possuem alguma dissociação e não são completamente inertes.

2.5 Metabolismo de lípides no rúmen

O catabolismo de lípides no rúmen é praticamente nulo e não ocorre oxidação de ácidos graxos, portanto lípides não geram calor de fermentação ruminal (PALMQUIST; JENKINS, 1980). Embora não utilizem lípides como fonte de energia, as bactérias sintetizam AG, por meio da síntese de novo a partir de acetato ou incorporam AG provenientes da dieta nos lípides microbianos (JENKINS, 1993).

As gorduras nas forragens e grãos utilizados na dieta de vacas leiteiras estão na forma de triglicerídeos com perfil de AG predominantemente insaturados. Entretanto, o perfil da gordura do leite contém em torno de 70% de AG saturados (JENSEN et al., 2002), indicando extensa alteração dos AG dietéticos pelos microrganismos no rúmen. Os principais processos que ocorrem são hidrólise da ligação éster do triglicerídeo (lipólise) e biohidrogenação dos AG insaturados. A lipólise ocorre no meio extracelular por enzimas bacterianas (CHILLIARD, 1993). A extensão da lipólise normalmente é alta, acima de 85% (DOREAU; FERLAY, 1994), mas pode ser reduzida por baixo pH ruminal, aumento do teor e ponto de fusão da gordura suplementar (BEAM et al., 2000). A lipólise é um pré-requisito para que ocorra a biohidrogenação, pois a ação enzimática do processo requer a terminação carboxil do AG livre (PALMQUIST; JENKINS, 1980).

A biohidrogenação é um mecanismo de defesa para os microrganismos ruminais contra os efeitos tóxicos da gordura (JENKINS, 1993). A biohidrogenação do ácido linoléico é realizada em etapas por grupos de bactérias (BAUMAN; GRINARI, 2001). Durante o processo, enzimas isomerases alteram as posições das ligações duplas e a conformação espacial da molécula gerando isômeros intermediários, enquanto redutases incorporam átomos de H, eliminando as duplas ligações (JENKINS, 1993) (Figura 1).

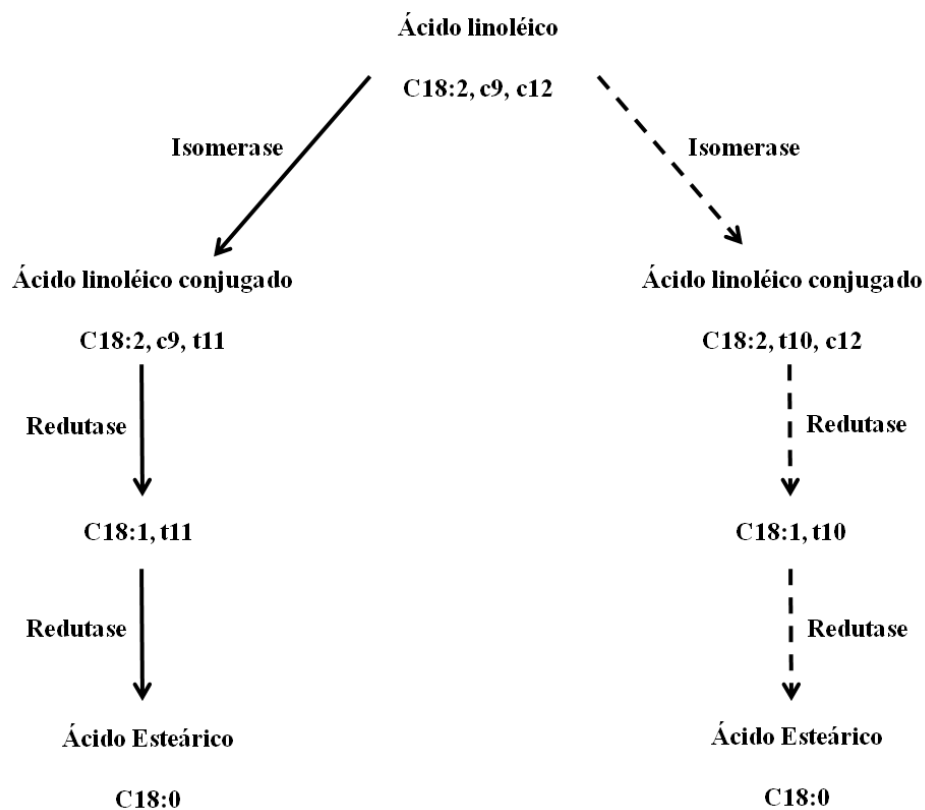


Figura 1 Rotas padrão (—) e alternativa (---) da biohidrogenação do ácido linoléico (C18:2, c9, c12)

Fonte: Adaptado de Bauman e Griinari (2001) e Jenkins (1993).

Harfoot e Hazelwood (1987) sugeriram que a biohidrogenação do ácido oleico ocorre pela conversão direta a ácido esteárico sem intermediários (Figura 2). Entretanto, Selner e Shultz (1980) observaram aumento de trans C18:1 na gordura do leite de vacas recebendo ácido oleico. Mosley et al. (2002) utilizaram ácido oleico marcado (oleico-1-¹³C) em estudo in vitro e identificaram o aparecimento de vários isômeros trans ¹³C18:1 nas posições 9 a 16 e aparecimento de C¹³18:0 nos tempos 0, 12, 24 e 48 h de incubação. O isômero t9 C18:1 foi completamente originado a partir do oléico marcado e teve a maior

concentração no fluido seguido dos isômeros t10 C18:1 e t11 C18:1. Proell et al. (2002) observaram aparecimento de isômeros trans C18:1 e aumento na concentração e aparecimento de ácido esteárico marcado utilizando t9 C¹³18:1 em cultura mista. Os autores sugeriram que esse isômero seria o primeiro intermediário do ácido oleico, a partir do qual os outros intermediários seriam gerados. A identificação dos isômeros não exclui a possibilidade da rota proposta por Harfoot e Hazelwood (1988), mas sugere um ponto em comum com a rota do ácido linoleico, principalmente, em decorrência dos isômeros t10 C18:1 e t11 C18:1 (BAUMAN; GRIINARI, 2001).

A extensão da biohidrogenação pode ser reduzida por baixo pH ruminal, presença de ionóforos e teor de AG insaturados livres no fluido ruminal, favorecendo o acúmulo ruminal dos intermediários (JENKINS; HARVATINE, 2014). O aumento do fluxo para o duodeno de intermediários da biohidrogenação foi associado a menor síntese de gordura pela glândula mamária (BAUMAN; GRIINARI, 2001). Gaynor et al. (1994) infundiram 750 g/d de uma mistura contendo em torno de 43% de trans-C18:1 e observaram redução na produção e no teor de gordura. Griinari et al. (1998) suplementaram óleo de milho em dieta com baixa forragem e observaram redução drástica no teor e aumento na proporção de C18:1 t10 na gordura do leite. Baumgard et al. (2011) demonstraram que a infusão abomasal de 10 g/d C18:2 t10, c12 foram suficientes para reduzir a produção e o teor de gordura do leite, mostrando que intermediários da biohidrogenação do ácido linoleico têm maior potencial de inibir a secreção mamária de gordura comparativamente a isômeros de oleico.

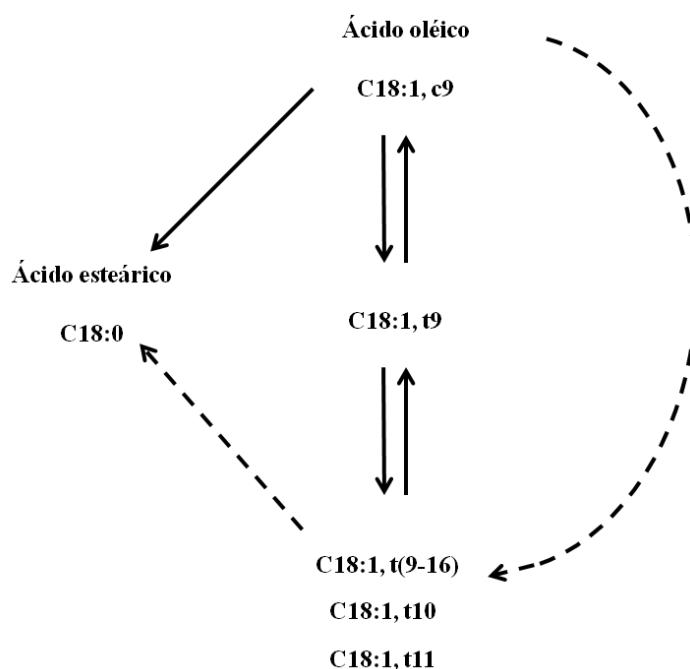


Figura 2 Biohidrogenação do ácido oleico (C18:1, c9)

Fonte: Mosley et al. (2002); Proell et al. (2002).

Redução na proporção de ácidos graxos oriundos da *síntese de novo* foi observada com o uso de suplementos ricos em ácido palmítico (LOCK et al., 2013; MOSLEY et al., 2007). Inibição alostérica sobre as enzimas lipogênicas (WRIGHT; CANT; MCBRIDE, 2002) e competição por sítio de ligação com o glicerol, principalmente com C14:0 durante a esterificação (BRECKENRIDGE; KUKSIS, 1968) induzida por C16:0 foram relacionadas à menor *síntese de novo* de gordura pela glândula mamária. Entretanto, a suplementação com C16:0 aumenta a produção total de gordura (LOCK et al., 2013; MOSLEY et al., 2007) comparado a um controle sem óleo.

A eficiência na utilização de gordura está relacionada à maior extração pela glândula mamária com o aumento da inclusão de gordura na dieta (ENJALBERT et al., 1998). A eficiência de incorporação dos ácidos palmítico e

oléico foi similar quando avaliada em relação ao total infundido no duodeno. Entretanto, a eficiência de produção total de gordura, considerando a incorporação de todos os AG, foi melhorada (62,0 vs. 29,7% do total infundido) para o ácido palmítico em relação ao ácido oleico, utilizando infusão duodenal de 490 gramas desses ácidos (ENJALBERT et al., 2000). Rico, Allen e Lock (2014) observaram aumento da produção de gordura, utilizando suplemento rico em ácido palmítico comparado a um sal de cálcio de óleo de palma com alta proporção de oleico. A captação pela glândula mamária de C16:0 foi correlacionada, positivamente, com o balanço de C4:0 e C6:0 na gordura do leite e para a captação de ácido oleico a correlação foi negativa com o balanço de C14:0 e C16:0 (ENJALBERT et al., 2000).

2.6 Fermentação ruminal e digestibilidade da fibra

As gorduras podem ser tóxicas aos microrganismos do rúmen reduzindo a produção de ácidos graxos voláteis (AGV), a relação acetato propionato (A/P) e a digestibilidade da fibra. O efeito é mais pronunciado para os AG insaturados, em razão da sua maior solubilidade no fluido ruminal (JENKINS, 1993). Alguns mecanismos têm sido propostos e foram discutidos por Palmquist e Jenkins (1980) e Chilliard (1993), em que a gordura afetaria a fermentação ruminal por: 1) efeito direto dos lípidos sobre o crescimento dos microrganismos, e 2) envolvimento de partículas alimentares criando uma barreira física, limitando o acesso das bactérias ao alimento.

Chalupa et al. (1984) demonstraram *in vitro* que a adição de 10% de AG insaturados afetou em maior intensidade a fermentação ruminal comparada a AG saturados. Os AG foram adicionados a 10% da MS do substrato na forma livre. Os AG C18:1, C18:2 e C18:3 reduziram ($P=0,05$) a produção total de AGV em 22, 23 e 26% e a relação A/P em 55, 59 e 62%, respectivamente comparado a

um controle sem óleo. O C18:0 não afetou ($P>0,05$) os parâmetros avaliados e o C16:0 reduziu a produção de AGV em 21% e a relação A/P em 25% comparado ao controle sem óleo.

Dias Júnior (2011) avaliou a digestibilidade *in vitro* da FDN do capim elefante (*Pennisetum purpureum*), utilizando óleo de soja, sal de cálcio de óleo de soja e sebo *in natura*. A adição de óleo de soja, rico em ácidos graxos insaturados na forma de triglicerídeos, deprimiu a digestibilidade ($P=0,05$), em relação ao controle sem óleo adicional e em relação à adição de sebo, fonte com maior proporção de AG saturado também na forma de triglicerídeos. O sal de soja apresentou resultado similar ao sebo e não foi capaz de contrapor o efeito sobre a digestão da fibra. Os valores obtidos foram 38,9, 30,1, 27,7 e 13,6% para os tratamentos controle, sal de cálcio, sebo e óleo de soja respectivamente.

Efeito negativo sobre a digestibilidade da fibra foi observado em estudos com ovinos (BROOKS; GARNER; GEHRKE, 1954; MACLEOD; BUCHANAN-SMITH, 1972; WHITE et al., 1958), utilizando óleo de milho ou soja na forma de triglicerídeos. Lucas e Loosli (1944), utilizando vacas da raça Holandês ,produzindo em torno de 20 kg de leite por dia, observaram redução na digestibilidade da fibra, utilizando óleo de soja ou soja integral crua e moída.

Palmquist e Conrad (1978) avaliaram a inclusão de 15% da MS de soja integral moída e observaram a redução na proporção molar de acetato (63,4 vs. 58,1%, $P=0,05$) e na relação A/P (3,0 vs. 2,3, $P=0,05$) em relação à dieta controle. Entretanto, a soja integral tostada incluída em níveis 0, 12, 18 e 24% com base na MS não afetou o consumo, o perfil de AGV ou a digestibilidade da fibra (KNAPP; GRUMMER; DENTINE, 1991). Resposta similar foi observada para o caroço de algodão (DEPETERS et al., 1985) indicando que sementes não processadas liberam o óleo lentamente no rúmen e não interferem com a fermentação.

A associação de sementes integrais com fontes saturadas ou inertes é uma estratégia frequentemente adotada em fazendas comerciais para aumentar o teor de gordura na dieta. Shauff, Clark e Drackley (1992) avaliaram o uso de soja crua integral e sebo *in natura* e observaram redução na quantidade de AGV total, na relação A/P e queda na digestibilidade da celulose, mas sem afetar a digestibilidade das frações fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN). A redução nos teores de sebo e o aumento da soja integral tostada substituindo soja crua mantendo o teor de gordura total aumentou quantidade de AGV total e não afetou a digestibilidade da MS (GRUMMER; LUCK; BARMORE, 1993). A estratégia de redução do sebo *in natura* fonte de liberação rápida no rúmen (CHALUPA et al., 1986) substituído por soja integral tostada de liberação lenta, provavelmente reduziu a velocidade de liberação de AG insaturado no rúmen e minimizou o efeito do óleo.

Jenkins e Jenny (1989), utilizando gordura amarela rica em ácido oleico observaram menor digestibilidade da FDA. Esse efeito não ocorreu quando sebo *in natura* ou uma mistura de gordura vegetal também ricos em ácido oleico foram utilizados em combinações dietéticas em que o teor de EE variou de 3,0 a 11,6% e o teor de FDA variou de 15 a 23% na MS (PALMQUIST; CONRAD, 1980).

Fontes mais inertes no rúmen podem reduzir o risco de interferência na fermentação ruminal. Grummer (1988) comparou uma fonte de gordura altamente saturada com sabão de cálcio de óleo de palma. Os tratamentos foram: 1) Controle, dieta basal sem adição de óleo; 2) Controle + 3,8% de sal de cálcio de óleo de palma; 3) Controle + 2,8% de Energy Booster; e 4) Controle + 5,0% de Energy Booster na MS. O teor de gordura total nos tratamentos foi de 4,4, 6,9, 7,6 e 8,2% de AG na MS respectivamente. A produção de leite, o CMS, a degradabilidade *in situ* da MS e da FDN e o perfil de AGV não foram afetados pelos tratamentos.

Elliott, Drackley e Weigel (1996) utilizaram cinco vacas em meio da lactação, DEL médio de 178 dias em delineamento do tipo QL 5 x 5 com períodos de 21 dias. A dieta basal com 50% de forragem continha 18% de proteína bruta (PB) e 32% de FDN na MS. Os tratamentos foram: 1) Controle igual à dieta basal sem adição de óleo; 2) Controle + 6,1% de sal de cálcio de óleo de palma; 3) Controle + 5,0% de Energy Booster; 4) Controle + 5,2% de isolado de ácidos graxos saturados de palma granulado e 5) Controle + 5,2% de isolado de ácidos graxos saturados de palma floculado na MS. O conteúdo de AG na MS foi 3,0, 7,8, 6,2, 7,3 e 7,5% respectivamente. As fontes e os níveis avaliados não afetaram a quantidade total de AGV, a relação A/P ou a digestibilidade da FDN no trato digestivo total em relação ao controle.

Contrário ao conceito de que gordura deprime a fermentação ruminal Shauff e Clark (1992) demonstraram aumento da digestibilidade da celulose, da proporção de acetato e da relação A/P quando forneceram 0, 3, 6 e 9% na MS de sal de cálcio de óleo de palma a vacas em meio da lactação. Entretanto, o CMS reduziu e diminuiu AGV total no rúmen. (SHAUFF; CLARK; DRACKLEY, 1992), utilizando dietas sem óleo suplementar, 16% na MS de soja integral ou 16% na MS de soja integral acrescida de 3 ou 6% na MS de sal de cálcio de óleo de palma observaram aumento da digestibilidade da hemicelulose em relação ao controle sem óleo suplementar sem aumentar a digestibilidade da FDN. A proporção de acetato e a relação A/P aumentaram com a adição de gordura. Similarmente, o CMS reduziu e a quantidade de AGV total seguiu a mesma resposta.

As fontes mais saturadas e inertes minimizam os efeitos negativos da gordura (PIRES; EASTRIGE; FIRKINS, 1996; GRUMMER, 1988) ou tem efeitos sutis sobre o perfil de AGV e a digestibilidade (SHAUFF et al., 1992). O efeito negativo da adição de óleo sobre a fermentação ruminal foi observado com a utilização de AG insaturado de liberação rápida no rúmen (LUCAS;

LOOSLI, 1944; PALMQUIST; CONRAD 1978). Nesse caso, parece que redução na digestibilidade de fibra não é um mecanismo limitante para o desempenho.

2.7 Consumo de matéria seca

A depressão no CMS induzida pela suplementação com gordura pode limitar a resposta produtiva (RABIEE et al., 2012). O baixo CMS pode estar relacionado à depressão de consumo por excesso de gordura suplementar (SHAUFF; CLARK, 1992), à menor palatabilidade (JENKINS; JENNY, 1989; SCHENEIDER et al., 1988) ou em razão da redução na digestibilidade da fibra, causando limitação física por enchimento ruminal (ALLEN, 2000). Entretanto, a digestibilidade da fibra não foi afetada pela adição de gordura (ELLIOTT; DRACKLEY; GRUMMER, 1988; PIRES; EASTRIDGE, FIRKINS, 1996; WEIGEL, 1996).

Relling e Reynolds (2007) observaram redução linear no CMS com aumento da insaturação e esse efeito foi relacionado com a maior concentração plasmática de hormônios moduladores do apetite como colecistoquinina (CCK), peptídeo semelhante à glucagon 1 (GLP-1) e peptídeo insulínico dependente de glicose (GIP). As dietas utilizadas foram controle sem adição de óleo ou 3% na MS de Energy Booster, sal de cálcio de óleo de palma e soja, representando fontes de gordura saturada, mono e poliinsaturada respectivamente. Harvatine e Allen (2005) observaram menor CMS e uma tendência ($P=0,08$) para o aumento na concentração plasmática de CCK para o sal de cálcio de óleo de palma em relação ao Energy Booster suplementados a 2,5% na MS.

Onetti e Grummer (2004) fizeram uma meta-análise avaliando artigos com suplementação de gordura e reportaram uma tendência ($P=0,07$) de redução

no consumo de 0,60 kg/dia quando sebo hidrogenado foi suplementado, e redução ($P=0,01$) de 0,97 kg/dia para sais de cálcio de óleo de palma. A inclusão dietética foi respectivamente de 3,6 e 3,8% na MS próximas às utilizadas por Relling e Reynolds, (2007) que observaram redução no CMS com o aumento da insaturação de AG.

A gordura saturada de palma (99% C16:0), 2% na MS da dieta, aumentou a concentração plasmática de CCK e não reduziu o CMS em relação ao controle (PIANTONI; LOCK; ALLEN, 2013). Entretanto, Lock et al. (2013) suplementando Bergafat-100 (85% C16:0) a 2,0 % na MS, observaram redução no consumo em relação ao controle sem óleo. Mesmo em pequena quantidade a maior proporção de insaturado no Bergafat-100 pode ter contribuído para o menor consumo, considerando que a dieta basal era muito semelhante entre os trabalhos.

Rico, Ying e Harvatine (2014a) avaliaram a suplementação com Megalac e Bergafat-100 incluídos em quantidades suficientes para prover 2% na MS de óleo suplementar. O CMS foi reduzido com a adição de gordura comparado ao controle e não difeiu entre as fontes. Esses autores em experimento não simultâneo e utilizando as mesmas fontes e quantidades de gordura observaram menor consumo para o Megalac (RICO; YING; HARVATINE, 2014b). Os tratamentos nessa segunda comparação onde houve diferença no CMS continham 7,0 e 7,1% na MS de gordura total (dieta basal+suplemento) enquanto que para a comparação anterior o valor foi de 5,6 e 5,7% na MS para Bergafat-100 e Megalac respectivamente. Nesse caso, a resposta em consumo pode interagir com a dieta basal e parece que o Bergafat-100 apresentou menor risco de deprimir consumo em relação ao Megalac.

2.8 Desempenho animal

A suplementação com gordura foi proposta inicialmente para aumentar a densidade energética da dieta para animais com baixo consumo e alta demanda de nutrientes em BEN como no início da lactação (SMITH; DUNKLEY; FRANKE, 1978). Jerred et al. (1990) suplementaram 0 e 5% na MS de Energy Booster para vacas recém-paridas a partir de 5 dias pós-parto até 100 dias de lactação. O CMS reduziu (23,6 vs. 22,1 kg/dia, $P=0,03$) e não foi observado efeito sobre a produção de leite ou LCG. A suplementação com gordura aumentou a concentração de β -hidroxibutirato (13,3 vs. 19,1 mg/100ml, $P=0,04$) e pode ter exacerbado o BEN com a redução no consumo. Hoffman et al. (1991) suplementando 2,8% na MS de Energy Booster observaram interação significativa ($P=0,01$) para a produção de leite ao longo do tempo. A produção de leite foi menor em relação ao controle até a semana 10 pós-parto.

A resposta em produção de leite à suplementação com gordura saturada é, em geral, positiva (ONETTI; GRUMMER, 2004; RABIEE et al., 2012). Mesmo vacas em meio da lactação em balanço positivo de energia podem aumentar a produção de leite ou a eficiência alimentar (DRACKLEY; CICELA; LACOUNT, 2003).

Respostas típicas da suplementação com gordura inerte foram reportadas por Wu et al. (1994). Esses autores utilizaram vacas com 92 dias de DEL em delineamento contínuo por 72 dias. A dieta basal continha 39,1 % de feno de alfafa, 7,2% de caroço de algodão na MS com 19,0% PB, 32,6% FDN, 23,7% de amido e 3,7% de AG total na MS. Os tratamentos foram: 1) Controle igual a dieta basal, 2) Controle + 2,5% de sebo, 3) Controle + 2,5% de Energy Booster e 4) Controle + 2,5% de sal de cálcio de óleo de palma. O teor de AG total foi de 3,7, 6,2, 6,1 e 6,2% na MS respectivamente. O consumo de matéria seca não diferiu entre os tratamentos. A suplementação com gordura aumentou a

produção de leite (31,6 vs. 33,7 kg/dia, $P=0,06$), a produção de gordura (1,02 vs. 1,11 kg/dia, $P=0,03$) e o leite corrigido para gordura (30,4 vs. 32,8 kg/dia, $P=0,05$). O teor de proteína diminuiu (3,13 vs. 3,01%, $P=0,03$) e a produção de proteína não foi afetada. Não houve diferença para as respostas produtivas entre as fontes de gordura avaliadas.

Harvatine e Allen (2005) fizeram uma comparação direta entre Energy Booster 5% na MS e Megalac 4,6% na MS, duas fontes amplamente utilizadas para suplementar gordura nos Estados Unidos. Foram utilizadas 32 vacas (DEL = 130 ± 70) produzindo $43,7 \pm 6,3$ kg/d de leite. O Megalac reduziu o CMS em 0,7 kg/d, com tendência a aumentar a produção de leite e LCG. A eficiência alimentar medida como LCG/CMS foi maior para o Megalac.

Já Harvatine e Allen (2005, 2006) observaram menor produção de leite e LCG para o Megalac em relação ao Energy Booster incluídos para obter 2,5% de gordura na MS. A redução de 2,4 kg/d no CMS foi significativa e diminuiu o consumo de energia digestível. O menor LCG para o Megalac reduziu a eficiência de uso da energia digestível para a produção de leite nesse tratamento. A baixa eficiência para a produção de leite pode ser justificada pela menor excreção de energia no leite. Menor teor e produção de gordura para o Megalac foi relacionado ao aumento do fluxo para o duodeno do intermediário t10, c12-CLA sabidamente depressor de gordura no leite (BAUMGARD et al., 2011). Curiosamente, a quantidade de gordura da dieta total, neste experimento, foi superior em 1% na MS ao utilizado por Harvatine e Allen (2005).

O Megalac é um sal de cálcio de óleo de palma com alta proporção de oleico e em menor quantidade linolênico. Assumindo que o sal de cálcio não é 100% inerte e que alguma dissociação ocorre (JENKINS; PALMQUIST, 1982) combinações dietéticas que favoreçam aumento de intermediários da biohidrogenação podem explicar redução na produção ou teor de gordura no leite com a suplementação de sal de cálcio de óleo de palma.

Rico, Ying e Harvatine (2014a) observaram aumento de t10 C18:1 e t10, c12-CLA e menor teor de gordura para o Megalac comparado ao Bergafat-100 suplementando 2% de gordura oriunda dessas fontes a vacas de alta produção $48,3 \pm 7,2$ kg/d de leite (DEL = 211 ± 68) nos meses de verão. Esse efeito não ocorreu para o grupo de vacas de baixa produção $33,8 \pm 3,7$ kg/d de leite (DEL = 211 ± 68) enfatizando o efeito da dieta basal nesta resposta. O CMS e a produção de leite não foram afetados pelos tratamentos e nem pelo nível de produção das vacas. Comparado ao sabão de cálcio parece que fontes ricas em ácido palmítico são mais inertes no rúmen e de menor propensão a reduzir gordura no leite, principalmente em vacas de maior produção de leite.

Em outro experimento, Rico, Ying e Harvatine (2014b) observaram aumento no CMS e na produção de leite para o Bergafat-100 em relação ao Megalac suplementados em quantidades suficientes para atingir 2% na MS de gordura. Foram utilizadas 16 vacas Holandês de alta produção $46,6 \pm 7,2$ kg/d com 211 ± 68 DEL. O Bergafat-100 aumentou a produção de lactose e gordura que refletiu em aumento no LCG. Não foram detectados na gordura do leite intermediários da biohidrogenação e o aumento da gordura no Bergafat-100 foi reflexo da maior eficiência da incorporação de ácido palmítico na gordura do leite.

Mosley et al. (2007) utilizaram um suplemento rico em ácido palmítico (87% C16:0) com inclusões de 0, 2,0, 3,5 e 5,0% da MS para vacas em meio de lactação (DEL = 146 ± 12) e observaram efeito quadrático sobre o CMS e aumento linear para a produção de leite e para o teor e produção de gordura com o aumento da inclusão. Piantoni, Lock e Allen (2013), utilizando 2% na MS da dieta de óleo de palma (99% C16:0) para vacas em meio de lactação (150 ± 66 dias em lactação) e não observaram diferença ($P=0,98$) no consumo. A produção de leite, o teor e a produção de gordura aumentaram em relação ao controle sem gordura suplementar.

Já Lock et al. (2013), em trabalho similar utilizando vacas em meio de lactação (DEL = 249 ± 33) produzindo 32 kg/dia, observaram redução no CMS (24,7 vs. 23,3 kg/dia, $P=0,01$). Os tratamentos utilizados foram: 1) Controle sem adição de gordura; 2) Bergafat-100 2% na MS da dieta. A produção de leite não foi alterada ($P=0,99$). O teor (3,88 vs. 4,16%, $P=0,01$) e a produção de gordura no leite (1,23 vs. 1,32 kg/dia, $P=0,01$) aumentaram significativamente, em razão do aumento de 27% no teor de ácido palmítico na gordura do leite ($P=0,01$) incorporado da fonte suplementar. O aumento da produção de gordura refletiu em tendência de aumento na produção de leite corrigido para gordura (35,1 vs. 33,6, kg/dia, $P=0,10$). Lock et al. (2013) sugerem que a maior eficiência observada com a incorporação de AG de cadeia longa principalmente palmítico pode economizar glicose aumentando a disponibilidade desse substrato para a síntese de lactose no leite.

A supressão da *síntese de novo* induzida por suplementação com gordura pode reduzir a demanda de glicose para a produção NADPH reduzido a partir da oxidação da glicose (PAMQUIST; JENKINS, 1980). Outro mecanismo seria pela menor utilização de acetato pela glândula mamária disponibilizando esse metabólito para uso em outros tecidos com ganho em eficiência no uso da glicose para a síntese de lactose no leite (CANT; DEPETERS; BALDWIN, 1993). Mosley et al. (2007) reportaram aumento de 3,1 kg de leite e aumento 100g de lactose suplementando 500 g/d de Energizer RP-10 (86,6% Ac palmítico) em relação a uma dieta sem óleo suplementar. Rico, Ying e Harvatine (2014b) observaram aumento de 1,7 kg/d de leite e 70g/d de lactose para o Bergafat-100 (84,8% de Ac palmítico) comparado ao Megalac (47,4% de Ac palmítico).

2.9 Gordura para vacas em estresse por calor

O estresse calórico reduz o consumo e em maior proporção a produção de leite (RHOADS et al., 2009). Além disso, durante esse período vacas entram em BEN (SHWARTZ et al., 2009) refletindo o aumento da exigência de manutenção (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981). O uso de gordura saturada para vacas em estresse por calor tem sido preconizado como estratégia para melhorar o balanço de energia sem aumentar o incremento calórico (DRACKLEY; CICELA; LACOUNT, 2003)

Knapp e Grummer (1991) utilizaram oito vacas multíparas (50 a 100 dias em lactação) em ambiente controlado, produção de 31 a 45 kg de leite por dia em delineamento do tipo Quadrado Latino 4x4 com arranjo fatorial para tratamentos. Os períodos foram de 15 dias com duas dietas e dois ambientes. As dietas foram: controle sem adição de gordura e tratamento com 5,0% na MS de Energy Booster. As dietas com 50% de alfafa continham 17,3% de PB, 29,8% de FDN e 2,8% AG total para o controle e 5,6% de AG total na MS no tratamento com gordura. Foram simulados dois ambientes térmicos: 1) Termoneutro com temperatura de 20,5°C e UR 38,0% (ITU = 65) constante ao longo de 24 horas e 2) Estresse térmico com temperatura de 31,8°C e UR de 56% (ITU = 82), no período de 05 às 19 horas e temperatura de 25,9°C e UR de 56% (ITU = 74), no período de 19 às 05 horas. Não houve efeito da interação entre a dieta com os diferentes ambientes térmicos, também não houve efeito da suplementação com gordura para os parâmetros de consumo, produção de leite, FR e TR. Entretanto, houve efeito positivo da suplementação sobre a produção de leite corrigido para gordura (31,5 vs. 29,1 kg/dia, $P=0,05$) e a produção de gordura (1,10 vs. 0,97 kg/dia, $P=0,05$), mas foram independentes do ambiente térmico.

Chan et al. (1997) trabalharam com 24 vacas da raça Holandês (80 ± 50 dias em lactação) em delineamento contínuo em arranjo fatorial 2×2 por 56 dias no período de verão. O ITU médio de 72 por mais de 18,6 horas diárias foi observado ao longo do experimento. Os fatores foram suplementação com 0 ou 3% da MS de Energy Booster e sombra ou resfriamento evaporativo. A interação gordura e sistema de resfriamento foi não-significativa. Os tratamentos não afetaram o CMS. A gordura tendeu a aumentar a eficiência alimentar. O resfriamento evaporativo aumentou a produção de leite e o teor de lactose. A FR e a TR não foram afetadas pela gordura ou pelo sistema de resfriamento.

Wang et al. (2010) utilizaram 48 vacas (184 ± 17 dias em lactação) em um delineamento em blocos ao acaso durante 10 semanas. O trabalho foi realizado em Beijing, China, no período quente do ano. O ITU às 07, 14 e 22 horas foi de 72,2, 84,3 e 76,6, respectivamente. Os tratamentos foram: Controle, dieta sem adição de gordura; 1,5 ou 3,0% da MS da dieta de Energy Booster contendo 89,3% de ácidos graxos saturados na MS. As dietas continham 16,8% de PB, 36,0% de FDN e 4,7, 6,1 e 7,5% de EE na MS. A suplementação com gordura aumentou a produção diária de leite (28,5 vs. 26,4 kg/dia, $P=0,01$), a produção de lactose, o teor e a produção de gordura e não teve efeito sobre o CMS ($P=0,87$). Não houve efeito das doses 1,5 ou 3,0% para as variáveis analisadas. A TR às 14 horas foi menor para os tratamentos com gordura (39,1 vs. 39,8°C, $P=0,01$), mas não houve diferença quando avaliada às 07 horas. A FR não foi influenciada pela gordura. A conclusão dos autores foi de que a gordura pode ter reduzido o incremento calórico e melhorado o balanço de energia das vacas, reduzindo gasto de energia na dissipação de calor. Nesse caso, o aumento em leite associado à maior síntese de lactose pode ser indicativo de maior disponibilidade de glicose para a glândula mamária (BAUMGARD et al., 2011).

Drackley, Cicela e Lacount (2003) avaliaram o efeito do estresse por calor, utilizando 9 multíparas (154 ± 23 dias em lactação) e 9 primíparas (167 ± 33 dias em lactação). O delineamento foi QL 3 x 3 com períodos de 28 dias. O ITU calculado pela temperatura média diária e UR mínima média diária foi de 71, 68 e 70 para os 3 períodos experimentais. Os tratamentos foram: 1) Controle sem adição de óleo, 2) Controle + 3% na MS de Mix de gordura animal e vegetal (MAV) e 3) Controle + substituição isoenergética em relação à dieta 2 de silagem por milho moído (Concentrado). A interação tratamento com ordem de parição não teve suporte estatístico para as variáveis analisadas. A suplementação com gordura reduziu o consumo em relação ao concentrado. A produção de leite aumentou com o aumento de energia e não diferiu entre gordura e concentrado. O concentrado reduziu a produção de gordura e o MAV não afetou esse parâmetro, resultando em maior eficiência alimentar para a gordura. O MAV reduziu a FR às 07 da manhã (50,4 vs 55,9, $P < 0,01$) e tendeu a reduzir a TR (38,7 vs 38,8, $P = 0,08$), em relação ao concentrado e foi numericamente menor que o controle.

O uso de gordura para vacas em estresse por calor melhora o balanço de energia com reflexo positivo sobre a produção de leite e a eficiência alimentar, desde que a disponibilidade de energia não seja limitada por redução drástica de consumo. Entretanto, os efeitos sobre TR e FR parecem modestos pelos resultados obtidos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de 6 de janeiro a 23 de março de 2014, no centro de pesquisa Better Nature, município de Ijaci, MG, Brasil (<http://www.holandesflamma.com.br/>), localizado a 21° 9' 52,52" de latitude sul e 44° 55' 51,89" de longitude oeste, a 848 m de altitude. A temperatura e a UR foram mensuradas com *data loggers* (EasyLog-USB-2-LCD, Lascar Electronics, Salisbury, Reino Unido) a intervalos de 30 minutos, continuamente, durante o período experimental. O ITU foi calculado: $ITU = T + 0.36 \times DP + 41,2$, onde T é a temperatura em °C e DP é o ponto de orvalho (YOUSEF, 1985). Características do ambiente dentro do estábulo são descritas na Tabela 3 e na Figura 3.

Tabela 3 Índice de Temperatura e Umidade (ITU), temperatura e umidade no centro do estábulo obtido por 3024 mensurações a cada 30 minutos durante as 9 semanas do experimento

Variável	
ITU ≥ 68, % do tempo	71,4
ITU ≥ 72, % do tempo	44,5
ITU médio	72,0
ITU máximo	85,1
ITU mínimo	61,1
Temperatura média, °C	23,8
Temperatura máxima, °C	36,0
Temperatura mínima, °C	15,0
Umidade média, %	78,2
Umidade máxima, %	100,0
Umidade mínima, %	34,0

As vacas foram alimentadas individualmente em instalação do tipo *tie stall* com camas de areia e equipada com de ventiladores e aspersores de alta pressão. Os ventiladores com 1 m de diâmetro foram posicionados a 2,2 m do

piso e a cada 6 m em linha sobre as camas, possibilitando velocidade do vento de 2 m/seg (Anemômetro 816a, Ambient Weather, Chandler, EUA) ao final dos 6 m a 1,5 m do piso. Os aspersores de alta pressão se localizavam na linha de cocho, a 1,9 m do piso e a 0,8 m de distância. Ventiladores e aspersores foram acionados às 07 h, enquanto ventiladores foram desligados às 22 h e aspersores às 20 h. Os ventiladores funcionavam continuamente, enquanto aspersores foram ligados por 30 segundos a cada 4 minutos, com vazão de 200 mL/min. Em dias muito quentes a ventilação foi ligada também durante todo o período noturno.

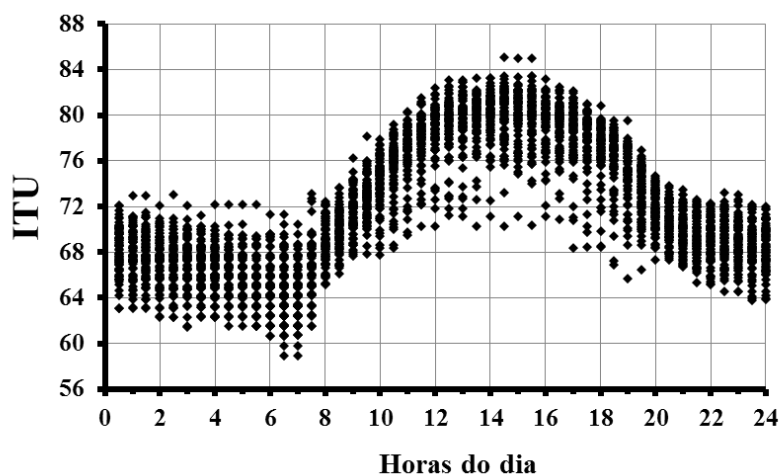


Figura 3 Índice de Temperatura e Umidade (ITU) a cada 30 minutos durante o experimento

Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandês (150 ± 70 dias em lactação no início do período experimental, sendo 18 primíparas). Uma dieta de padronização foi utilizada durante 14 dias e as variáveis mensuradas na última semana foram utilizadas como covariável no modelo estatístico. As vacas formaram blocos de três animais por ordem de parto (primíparas ou multíparas) e produção de leite e foram alocadas aleatoriamente a um de três tratamentos por nove semanas do período de comparação. Os tratamentos foram (Tabela 4):

Controle (C, dieta com caroço de algodão e soja integral tostada), Lacfat (L, dieta C acrescida de óleo de palma fracionado. Lacfat, Vaccinar Indústria e Comércio Ltda, Belo Horizonte, Brasil) ou sal de cálcio de óleo de palma (S, dieta C acrescida de sal de cálcio de óleo de palma). A composição das fontes de gordura de palma é relatada na Tabela 5. O perfil de ácidos graxos, nesses alimentos, foi determinado por cromatógrafo gasoso Modelo 6890 N equipado com um detector de ionização de chama (Agilent Technologies Brasil Ltda, Barueri, Brasil), após metilação dos ácidos graxos (SUKHIJA; PALMQUIST, 1988). O processo utilizou coluna capilar de sílica fundida 88 CP-Sil (100 m x 0,25 mm x 0,2 mm de espessura de filme. Varian Inc., Mississauga, EUA). A temperatura do injetor e do detector foi de 250°C. O gás de arraste foi o hidrogênio (1 mL/min). A temperatura inicial foi de 45°C por 4 min, seguido de aumento de 13°C/min até 175°C, sendo essa temperatura mantida por 27 min, após outro aumento de 4°C/min até 215°C, mantido por 35 min.

As ordenhas foram iniciadas às 05 h e 16 h e a produção de leite foi mensurada diariamente. As duas ordenhas foram amostradas nos últimos três dias do período de padronização e nos dias 6 e 7 de cada semana. Amostras compostas foram formadas por dia, respeitando a proporção do leite obtido em cada ordenha e foram armazenadas sob refrigeração em frascos com o conservante 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol, para análise no máximo quatro dias após a coleta por espectroscopia no infravermelho (Bentley 2000, Bentley Instruments Incorporated, Chaska, EUA) no Laboratório Centralizado da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH, Curitiba, Brasil). Foram avaliadas as concentrações de proteína, gordura, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico do leite (NUL). A secreção diária de energia no leite (EnLeite, Mcal/d) foi calculada segundo o NRC (2001): $EnLeite = [(0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ de proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ de lactose})] \times \text{kg de leite}$. A produção de leite corrigida para energia (Leite E) foi calculada por:

Leite E = EnLeite/0,70. Esse procedimento assume que o conteúdo de energia em leite com 3,7% de gordura, 3,2% de proteína e 4,6% de lactose é 0,70 Mcal/kg. A produção de leite corrigida para 4% de gordura (Leite 4%) foi calculada: $LC4 = (0,4 + 15 \times \% \text{ de gordura}/100) \times \text{kg de leite}$.

Tabela 4 Composição das dietas consumidas nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S). % da matéria seca

	C	L	S
Silagem de milho	37,2	37,2	37,2
Feno de Tifton	3,9	3,9	3,9
Caroço de algodão inteiro	8,2	8,2	8,2
Milho maduro moagem fina, reidratado e ensilado	10,8	10,8	10,8
Milho maduro moagem fina	16,3	15,3	15,1
Soja integral tostada moagem grosseira ¹	8,0	8,0	8,0
Farelo de soja	12,6	12,6	12,6
Lacfat		1,1	
Sal de cálcio de óleo de palma			1,3
Premix ²	3,0	3,0	3,0
Proteína bruta	18,0	17,9	17,9
Fibra em detergente neutro	30,6	30,5	30,5
Extrato etéreo	7,3	8,4	8,4
Extrato etéreo de algodão e soja	3,2	3,2	3,2
Extrato etéreo de Lacfat		1,1	
Extrato etéreo de sal de cálcio de óleo de palma			1,1
Cinzas	6,8	6,8	7,0
Carboidratos não fibrosos	37,6	36,8	36,7
Amido	34,3	33,4	33,3
Matéria seca, % da matéria natural	43,9	43,9	43,9

¹ Nutrisoja Alfa (Cooperativa Agroindustrial Alfa, Chapecó, SC)

² Premix: 42,9% calcário calcítico, 21,4% bicarbonato de sódio, 10,0% óxido de magnésio, 4,3% NaCl, 7,1% ureia, 1,4% leveduras vivas e 12,9% minerais e vitaminas (18,5% Ca; 15,0% P; 3,0% Mg; 3,0% S; 240 ppm Co; 3.000 ppm Cu; 8.000 ppm Mn; 12.000 ppm Zn; 90 ppm Se; 180 ppm I; 8.000.000 UI/kg Vit. A; 2.000.000 UI/kg Vit. D; 50.000 UI/kg Vit. E)

Tabela 5 Composição e perfil de ácidos graxos (AG) das fontes de gordura Lacfat e sal de cálcio de óleo de palma

	Lacfat	Sal de cálcio de óleo de palma
Matéria seca, % da matéria natural	99,5	96,7
Extrato etéreo, % da matéria seca	99,7	85,9
Cinzas, % da matéria seca	0,3	14,1
C14:0 Mirístico, g/100 g de ácidos graxos	1,2	1,3
C16:0 Palmítico, g/100 g de ácidos graxos	73,5	41,5
C18:0 Esteárico, g/100 g de ácidos graxos	5,1	3,8
C18:1 Oléico, g/100 g de ácidos graxos	14,7	38,4
C18:2 Linoleico, g/100 g de ácidos graxos	3,0	5,7
Outros, g/100 g de ácidos graxos	2,5	9,3

As vacas foram alimentadas individualmente com dieta completa misturada, duas vezes por dia, em vagão estacionário (Unimix 1200, Casale Equipamentos Ltda, São Carlos, Brasil). Os alimentos foram ofertados em quantidade suficiente para obter no mínimo 10% do oferecido como sobra diária. O teor de MS das forragens foi monitorado semanalmente por desidratador elétrico (Koster Crop Tester, Strongsville, EUA). Amostras dos alimentos e das sobras de cada vaca foram coletadas diariamente e congelados. Uma amostra composta foi formada ao final de cada semana para cada alimento e para as sobras por vaca. As amostras compostas de alimentos e sobras foram pré-secas em estufa ventilada por 72 h a 55°C, trituradas em peneira com crivo de 1 mm em moinho do tipo Thomas-Willey, e uma subamostra foi desidratada a 100°C por 24 h para determinação do teor de MS. A PB foi analisada por um destilador a vapor do tipo Mikrokjeldhal (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 1975). As análises de EE foram realizadas pela

técnica de hidrólise ácida segundo o A.O.A.C. (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 1990). As cinzas foram determinadas por incineração da amostra a 550°C por 8 h. O teor de FDN foi determinado por um determinador de fibra TE-149 (Tecnal, Piracicaba, SP), usando amilase e sulfito de sódio. O teor de amido foi determinado, enzimaticamente, pelo método de Back Knudsen modificado (HALL, 2009). A composição da dieta consumida foi calculada para cada vaca e o CMS foi calculado no final do período de padronização e, diariamente, ao longo do período de comparação.

A digestibilidade aparente no trato digestivo total da MS (DMS), da matéria orgânica (DMO), da FDN (DFDN), da matéria orgânica não FDN (DMOnFDN), do amido (Damido) e do EE (DEE) foram mensurados. Também foi mensurada a DMO não representada por FDN, amido e EE, teoricamente representativo da PB e CNF não amiláceo na dieta (DCP). A produção fecal foi mensurada por coleta total realizada em três períodos de 8 h ininterruptas nos dias 61 a 63, sendo as coletas iniciadas com 8 h de atraso em relação ao dia anterior, visando a obter uma amostragem representativa das 24 h do dia, sem causar distúrbio no consumo de alimentos e na produção de leite dos animais. As amostras de fezes foram coletadas em baldes simultaneamente à defecação, imediatamente congeladas ao longo da coleta e formaram uma amostra composta por vaca.

Simultaneamente à coleta de fezes, foi realizada coleta total de urina para mensuração da excreção diária de alantoína e estimativa da síntese relativa de proteína microbiana no rúmen. Durante a coleta, a urina foi armazenada em galões contendo solução de ácido sulfúrico a 20%, adicionada em frações de 200 mL ao início de cada um dos três períodos de 8 h de coleta. Ao final, o conteúdo foi homogeneizado, o volume mensurado e uma amostra composta coletada para cada vaca. Uma amostra composta foi diluída na proporção 1:5 com solução de

ácido sulfúrico 4% e congelada a -20°C até a realização das análises de alantoína como descrito por Chen e Gomes (1992).

A atividade mastigatória foi avaliada nos dias 24 e 57 por observação visual da atividade bucal de cada animal a intervalos de 5 min por 24 h. As atividades registradas foram ingestão de alimento ou água, ruminação e ócio. Também foi registrada a posição do animal para cálculo do tempo diário de decúbito, como provável indicador indireto de estresse calórico. O tempo de mastigação foi definido como a soma dos tempos de ingestão e ruminação em min/d. A atividade mastigatória expressa por unidade de CMS foi calculada utilizando o CMS do dia da mensuração. A duração da primeira refeição foi cronometrada para cada vaca após a oferta matinal de alimento. A duração das refeições foi obtida pela relação entre o tempo diário de ingestão (mensurado em múltiplos de 5 min) e o número de refeições por dia.

Amostras de sangue foram obtidas nas semanas 2, 4, 6 e 8 para análise de glicose e determinação do equilíbrio ácido-básico. Amostras para análise de glicose foram obtidas $12\text{ h} \pm 15\text{ min}$ após a alimentação da manhã por punção dos vasos coccígeos por tubo vacuolizado com EDTA e fluoreto de potássio. O plasma foi obtido por centrifugação a $1000 \times g$ por 15 min e uma amostra foi congelada a -20°C até as análises. O teor da glicose no plasma foi determinado por kit laboratorial (Glicose Enzimática Líquida, Doles Reagentes para Laboratórios Ltda, Goiânia, Brasil). Amostras de sangue para gasometria venosa foram coletadas 6 h após a alimentação matinal por punção na veia jugular com tubos vacuolizados contendo heparina. Durante o procedimento de coleta e transporte ao laboratório, as amostras foram armazenadas em gelo. O tempo decorrido entre o início das coletas e a análise foi inferior a 1 h. Os parâmetros sanguíneos descrevendo o equilíbrio ácido-básico foram mensurados em um hemogasômetro (AGS 22 Blood Gas Analyzer, Drake Eletrônica e Comércio Ltda, São José do Rio Preto, Brasil).

Os animais foram pesados e o escore de condição corporal (ECC) mensurado no final do período de padronização e nas semanas 2, 4, 6 e 8 do período de comparação. O ECC foi mensurado por três avaliadores independentes em escala de 1 a 5, sendo 1 representativo de magra e 5 de obesa (WILDMAN; JONES; WAGNER, 1982). As pesagens foram realizadas nos dois últimos dias de cada semana imediatamente após a ordenha matinal.

A FR foi avaliada ao final de cada semana às 9 h e 15 h por contagem dos movimentos respiratórios. Foram realizadas três contagens de 15 seg e o valor médio foi multiplicado por quatro para obter a frequência em minutos. A TR foi mensurada nos mesmos dias às 08, 14, 20 e 02 h com termômetro digital (G-Tech TH186, Onbo Electronics, Shenzhen, China). Após a introdução no reto, o termômetro era levemente inclinado para que ficasse em contato com a mucosa.

A sudorese foi mensurada no flanco, a cada 14 dias de acordo com Schleger e Turner (1965). A técnica colorimétrica utilizou discos de papel contendo cloreto de cobalto. Foi utilizado papel de filtro Whatman nº 1 com porosidade de 11 μm . O papel foi embebido em solução de cloreto de cobalto a 10% e levado a estufa de 105 °C por 2 min. O papel seco foi cortado em discos de 0,5 cm de diâmetro. Os discos foram novamente colocados em estufa por 2 min para perder a umidade absorvida do ambiente. Com a estufa aberta, 3 discos foram retirados 1 a 1 e colocados sobre uma lâmina de vidro para cortes histológicos e fixados com fita adesiva transparente. A lâmina com os discos foi imediatamente colocada em um vidro hermeticamente fechado contendo sílica. Esse procedimento foi realizado 24 h antes da coleta. Uma área retangular de 3 x 10 cm foi tricotomizada no flanco esquerdo, 10 cm abaixo das vértebras lombosacras, no dia anterior à coleta. A fita adesiva com os discos foi afixada sobre a pele da área tricotomizada. O tempo para que cada disco cor azul violeta mudasse de cor para róseo claro foi cronometrado. A média dos três tempos foi

utilizada para calcular a taxa de sudorese pela fórmula: Taxa de sudorese ($\text{g/m}^2/\text{h}$) = $38.446,6/T$, onde T é o tempo em segundos.

No dia 63, foram obtidas amostras de fluido ruminal, 12 ± 1 h após a alimentação da manhã, através de sonda flexível oro-gástrica com auxílio de uma bomba de sucção a vácuo. Após a coleta o fluido foi homogeneizado, filtrado e amostrado. Uma alíquota foi destinada à mensuração do pH e outra foi imediatamente congelada em nitrogênio líquido e armazenada -20°C para análise da concentração de AGV por cromatografia gasosa. (Modelo Waters Alliance e2695, Barueri-SP, Brasil) com detector com comprimento de onda de excitação em 210 nm (PAD 2998) e coluna de fase reversa C18 ODS 80A (150 m x 4,6 mm x 5 μm). As condições de análise utilizou fase móvel isocrática constituída de 100% de solução aquosa ácida (ácido fosfórico) pH 2,35-2,55, temperatura do forno de $30 \pm 5^\circ\text{C}$, volume de injeção de amostra de 10 μL , fluxo de 1 mL/min e corrida de 20 min. Outra amostra de 10 mL de fluido ruminal acrescida de 10 mL de formalina (formaldeído 37%) foi armazenada, refrigerada para quantificação de protozoários. A mensuração de protozoário foi realizada de acordo com a técnica de coloração e diluição proposta por Dehority (1984) e a contagem feita em Câmara de Neubauer (FERREIRA NETO; VIANA; MAGALHÃES, 1981).

Os dados obtidos ao longo do tempo foram analisados pelo procedimento Mixed do SAS (LITTELL et al., 1996) com o seguinte modelo: $Y_{ijk} = \mu + CV + B_i + T_j + Tp_k + TTP_{jk} + e_{ijk}$. Onde: μ = média geral, CV = efeito contínuo de covariável (medida da mesma variável no final da padronização), B_i = efeito aleatório de bloco ($i = 1$ a 10), T_j = efeito fixo de tratamento ($j = C, L, S$), Tp_k = efeito fixo de tempo ($k =$ dias ou semanas), TTP_{jk} = interação entre tratamento e tempo, e_{ijk} = erro residual. Para variáveis mensuradas uma vez durante o período experimental, o mesmo modelo foi utilizado, mas sem os

efeitos de covariável, tempo e sua interação com tratamento. Quatro contrastes compararam tratamentos: C vs. L, C vs. S, C vs.(L + S) e L vs. S.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A condição ambiental durante o experimento (Tabela 3) indica que houve propensão à ocorrência de estresse por calor. O período de ITU superior a 68 foi em média 17,1 h/d e valores de ITU maiores que 64 ocorreram por 22,9 h/d. Valores de ITU maiores que 76 ocorreram praticamente todos os dias e valores abaixo de 64 foram pouco frequentes (Figura 3). Zimelman et al. (2009) sugeriram que a ocorrência de estresse por calor em vacas produzindo cerca de 35 L/d estaria relacionada a ITU mínimo maior que 64 ou a mais de 17 h/d de tempo de ITU maior que 68.

Apesar da ocorrência de ambiente térmico capaz de induzir estresse por calor, não foram observados sinais da ocorrência de estresse calórico severo nessas vacas em fase intermediária da lactação e com produção leiteira ao redor de 30 kg/d. O valor mais alto de TR foi 39,15°C, no tratamento C às 14 h, e o menor valor foi 38,58°C, no tratamento S às 8 h, enquanto a FR variou de 49 a 64 respirações por minuto (Tabela 6). Valores de FR acima 70 e TR acima de 39,0°C são indicativos de estresse por calor (SORIANI; PANELLA; CALAMARI, 2013), enquanto valores acima de 80 respirações por minuto e 40°C são sugestivos de estresse térmico severo (RHOADS et al., 2009). Apesar do experimento ter sido conduzido na estação quente e chuvosa do Brasil central, a adoção de aspersores e ventiladores na instalação e de dieta com alto teor lipídico foi aparentemente efetiva no controle da hipertermia nos animais.

Os lípides de palma, nas duas formas avaliadas, aumentaram a produção de leite e reduziram o CMS, aumentando a eficiência alimentar (Tabela 7), mesmo quando a dieta basal continha 3,2% da MS de EE oriundo de oleaginosas e 7,3% de EE total (Tabela 2). O sal de cálcio de óleo de palma foi mais potente depressor do CMS em relação ao controle do que o Lacfat, mas induziu maior ganho na secreção mamária de lactose e gordura, resultando em maior produção

diária de sólidos do leite e ganho na eficiência alimentar (Tabela 7). Na dieta S, o ganho proporcional em secreção diária de gordura foi de 5,7% relativamente a C, enquanto que o ganho em secreção de lactose foi de 3,8% (+ 53 g/d, para ambos). A dieta L também induziu ganho em síntese de gordura do leite (+ 40 g/d), mas ganho apenas numérico nas secreções de lactose e sólidos, sem magnitude suficiente para obter suporte estatístico. Considerando que o consumo de EE foi 1453 g/d, 1630 g/d e 1596 g/d, nos tratamentos C, L e S, respectivamente (Tabelas 4 e 5), a eficiência de conversão aparente do EE adicional ingerido em gordura do leite foi 23% para L (40/177) e 37% para S (53/143). A ingestão diária de EE digestível foi 1032 g/d em C, 1152 g/d em L e 1124 g/d em S, calculado a partir dos coeficientes de digestibilidade aparente do EE nas dietas (Tabela 8). A eficiência de conversão do EE adicional digerido em gordura do leite foi 33% (40/120) para L e 58% (53/92) para S. O sal de cálcio, com maior proporção de ácido oleico e menor proporção de ácido palmítico que o Lactat (Tabela 5), teve maior conversão do EE ingerido e digerido em gordura do leite.

Tabela 6 Frequência respiratória e temperatura retal semanal e sudorese a cada 14 dias nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S)

Hora do dia	C	L	S	EPM ¹	Valores de P ²						
					T	TxTp	CL	CS	CG	LS	
Frequência, respirações/min											
09:00	54,3	52,6	49,3	1,85	0,14	0,96	0,50	0,06	0,14	0,21	
15:00	63,8	60,0	58,1	1,98	0,13	0,53	0,19	0,05	0,06	0,49	
Temperatura retal, °C											
08:00	38,72	38,59	38,58	0,032	0,01	0,21	0,01	0,01	0,01	0,83	
14:00	39,15	39,07	38,91	0,050	0,01	0,69	0,25	0,01	0,01	0,02	
20:00	38,95	38,84	38,79	0,043	0,04	0,61	0,09	0,01	0,02	0,35	
02:00	38,84	38,74	38,69	0,061	0,22	0,64	0,27	0,08	0,12	0,54	
Sudorese, g/m ² /h											
15:00	348	328	367	23,1	0,40	0,03	0,53	0,57	0,97	0,23	

¹EPM = Erro padrão das médias

²T = tratamento, Tp = Tempo, TxTp = interação entre tratamento e tempo. Contrastes: CL = Controle vs Lacfat, CS = Controle vs Sal de cálcio de óleo de palma, CG = Controle vs (L+S), LS = Lacfat vs Sal de cálcio de óleo de palma

Tabela 7 Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica digestível (CMOD), desempenho leiteiro, N-urético no leite (NUL), eficiência alimentar, ECC e peso vivo nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S). Dados obtidos ao longo de 9 semanas ajustado para covariável

	C	L	S	EPM ¹	Valores de P ²					
					T	TxTp	CL	CS	CG	LS
CMS, kg/d	19,9	19,4	19,0	0,14	0,01	0,99	0,01	0,01	0,01	0,07
CMOD, kg/d	14,1	13,7	12,4	0,22	0,01	0,99	0,19	0,01	0,01	0,01
Leite, kg/d	30,1	30,9	31,1	0,28	0,07	0,12	0,06	0,02	0,02	0,57
Leite 4%, ³ kg/d	26,0	26,9	27,1	0,26	0,01	0,15	0,03	0,01	0,01	0,46
Leite E, ⁴ kg/d	27,4	28,4	28,9	0,52	0,12	0,93	0,15	0,05	0,05	0,52
Gordura, kg/d	0,922	0,962	0,975	0,0131	0,02	0,24	0,04	0,01	0,04	0,46
Gordura, %	3,05	3,12	3,13	0,039	0,38	0,68	0,29	0,19	0,17	0,78
Proteína, kg/d	0,936	0,943	0,949	0,0105	0,72	0,34	0,66	0,42	0,47	0,70
Proteína, %	3,10	3,06	3,05	0,030	0,41	0,77	0,30	0,21	0,19	0,82
Lactose, kg/d	1,401	1,421	1,454	0,0172	0,08	0,17	0,41	0,03	0,08	0,18
Lactose, %	4,63	4,60	4,66	0,039	0,49	0,23	0,56	0,60	0,96	0,24
Sólidos, kg/d	3,545	3,613	3,674	0,0410	0,08	0,14	0,25	0,03	0,05	0,28
Sólidos, %	11,72	11,70	11,79	0,099	0,78	0,21	0,88	0,63	0,85	0,50
NUL, mg/dL	15,0	15,1	14,8	0,60	0,92	0,65	0,90	0,79	0,93	0,70
Leite/CMS	1,54	1,62	1,68	0,012	0,01	0,95	0,01	0,01	0,01	0,01
Leite E/CMS	1,40	1,47	1,52	0,014	0,01	0,63	0,01	0,01	0,01	0,01
Leite E/CMOD	2,01	2,10	2,31	0,034	0,01	0,83	0,06	0,01	0,01	0,01
ECC, 1 a 5	3,39	3,33	3,36	0,038	0,55	0,52	0,29	0,67	0,40	0,52

¹ EPM = Erro padrão das médias

² T = tratamento, Tp = Tempo, TxTp = interação entre tratamento e tempo. Contrastes: CL = Controle vs Lacfat, CS = Controle vs Sal de cálcio de óleo de palma, CG = Controle vs (L+S), LS = Lacfat vs Sal de cálcio de óleo de palma

³ Leite 4% = Leite corrigido para 4% de gordura. ⁴ Leite E = Leite corrigido para energia

Enjalbert et al. (2000) utilizaram infusão duodenal de C16:0 e C18:1 e encontraram uma eficiência de conversão de 62% para o ácido palmítico e 29,7% para o ácido oleico em relação ao total infundido. Esses valores foram contrários aos aqui descritos onde maior eficiência de conversão foi observada para o suplemento rico em ácido oleico. Uma possível explicação pode estar relacionada ao alto teor de ácido oleico oriundo da dieta basal. O balanço de ácido palmítico na gordura do leite foi correlacionado negativamente ($r = -0,57$, $P < 0,05$) com a captação de ácido oleico pela glândula mamária quando esse ácido foi infundido no duodeno (ENJALBERT et al., 1998). Nesse caso, aumento do fluxo duodenal de ácido oleico pode ter afetado em maior magnitude a eficiência de conversão do EE oriundo do Lacfat, rico ácido palmítico, em relação ao tratamento S.

Tabela 8 Digestibilidade aparente no trato digestivo total da MS (DMS), da MO (DMO), da FDN (DFDN), da MO não-FDN (DMOnFDN), do amido (DAmido), do extrato etéreo (DEE) e da fração MO – (FDN + Amido + EE) (DPC) nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S). % do ingerido

	C	L	S	EPM ¹	Valores de P^2				
					T	CL	CS	CG	LS
DMS	74,5	72,9	70,6	1,43	0,17	0,45	0,06	0,14	0,26
DMO	76,6	75,2	73,3	1,27	0,21	0,45	0,08	0,15	0,30
DFDN	57,1	53,7	52,5	2,55	0,43	0,37	0,21	0,22	0,73
DMOnFDN	86,8	86,0	84,0	0,87	0,08	0,57	0,03	0,11	0,11
DAmido	95,0	94,8	94,5	0,42	0,62	0,70	0,33	0,44	0,56
DEE	71,0	70,7	70,4	1,87	0,97	0,92	0,82	0,85	0,90
DPC	78,7	78,6	72,8	2,04	0,08	0,97	0,05	0,24	0,05

¹ EPM = Erro padrão das médias

² T = tratamento. Contrastes: CL = Controle vs Lacfat, CS = Controle vs Sal de cálcio de óleo de palma, CG = Controle vs (L+S), LS = Lacfat vs Sal de cálcio de óleo de palma

O sal de cálcio de gordura de palma foi mais depressor do CMS que o Lacfat (Tabela 7). Não é claro, contudo, se a diferença na resposta em CMS foi decorrente da forma industrial dos produtos ou do perfil de ácidos graxos das gorduras. A queda no consumo na dieta S foi acompanhada de queda na taxa de ingestão, sugerindo que baixa aceitabilidade pode ter sido um dos mecanismos envolvidos no menor CMS (GRUMMER; HATFIELD; DENTINE, 1990), apesar de não ter ocorrido efeito marcado sobre o padrão ingestivo (Tabela 9). Queda induzida pela suplementação lipídica na digestão fibrosa não foi uma explicação plausível para a depressão do CMS nas dietas com gordura de palma (Tabela 8), apesar do menor valor numérico da DFDN nas dietas L e S. Fontes lipídicas podem induzir a síntese de peptídeos intestinais inibidores do consumo (CHOI; PALMQUIST; ALLEN, 1997; PIANTONI; LOCK; ALLEN, 2013; REIDELBERGER, 1994) e podem aumentar o teor plasmático de AGNE bem como a oxidação hepática de ácidos graxos de cadeia longa, tendo efeito hipofágico em vacas leiteiras (ALLEN, 2000). Assume-se que ácidos graxos insaturados são mais inibidores do consumo que saturados (FIRKINS; EASTRIDGE, 1994; HARVATINE; ALLEN, 2006; PANTOJA et al., 1994; PANTOJA; FIRKINS; EASTRIDGE, 1996; RELLING, REYNOLDS, 2007), e que sais de cálcio de ácidos graxos de palma são mais depressores do consumo que oleaginosas e que gordura saturada de origem vegetal ou animal (ALLEN, 2000), o que é coerente aos achados deste experimento. Drackley et al. (1992) sugerem que o maior efeito hipofágico de ácidos graxos insaturados no duodeno estaria relacionado à maior liberação de colecistoquinina e à maior velocidade de oxidação hepática.

Rico, Ying e Harvatine (2014b) observaram que uma dieta suplementada com BergaFat (o mesmo produto que Lacfat) resultou em menor CMS que uma dieta suplementada como o mesmo teor de ácidos graxos oriundos de sal de cálcio de óleo de palma, entretanto, naquele experimento, o desempenho leiteiro

foi menor na dieta com sal de cálcio de palma. As vacas, naquele trabalho, não estavam sujeitas à estresse por calor e a avaliação da resposta às fontes de gordura foi realizada duas semanas após o início da suplementação. Estes pesquisadores (RICO; YING; HARVATINE, 2014a) também observaram que sal de cálcio de palma induziu depressão no teor de gordura do leite somente quando fornecido a vacas de alta produção leiteira (42 kg/d), sem afetar o desempenho de vacas menos produtivas (29 kg/d). Esses dados sugerem que fatores associados ao potencial produtivo e/ou estágio da lactação dos animais, ambiente e duração da suplementação lipídica podem ser determinantes da resposta induzida por fontes lipídicas de palma.

Tabela 9 Atividade mastigatória, comportamento ingestivo e tempo de decúbito nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S)

	C	L	S	EPM ¹	Valores de P ²				
					T	CL	CS	CG	LS
Ingestão, min/d	297	291	326	13,0	0,12	0,73	0,10	0,47	0,05
Ruminação, min/d	466	465	464	15,9	0,99	0,97	0,93	0,94	0,96
Mastigação, min/d	763	756	790	23,5	0,54	0,83	0,40	0,75	0,30
Ingestão, min/kg CMS	14,7	14,9	17,3	0,67	0,01	0,87	0,01	0,09	0,01
Ruminação, min/kg CMS	23,4	23,8	24,8	0,90	0,52	0,75	0,27	0,42	0,43
Mastigação, min/kg CMS	38,2	38,7	42,2	1,29	0,06	0,76	0,03	0,15	0,06
Tempo da 1ª refeição, min	40,0	35,5	36,3	3,21	0,58	0,33	0,41	0,30	0,86
Tempo por refeição, min	28,2	29,4	30,4	1,39	0,53	0,53	0,26	0,31	0,62
Refeições, /d	10,6	10,1	10,8	0,44	0,44	0,38	0,71	0,76	0,21
Tempo de decúbito, h/d	13,2	12,9	13,0	0,38	0,85	0,58	0,69	0,58	0,86

¹ EPM = Erro padrão das médias

² T = tratamento. Contrastes: CL = Controle vs Lacfat, CS = Controle vs Sal de cálcio de óleo de palma, CG = Controle vs (L+S), LS = Lacfat vs Sal de cálcio de óleo de palma.

Apesar de não terem sido observados sinais de estresse calórico severo, as vacas alimentadas com sal de cálcio de óleo de palma tiveram menor FR e TR do que as vacas na dieta C (Tabela 6). Vacas na dieta S tiveram temperatura retal sempre abaixo de 39°C. Vacas na dieta L também tiveram menor FR e TR que C, entretanto, a magnitude da resposta não foi numericamente tão acentuada quanto à resposta induzida por S, resultando em menor suporte estatístico para as diferenças. Entretanto, não houve diferença em outros indicadores de estresse por calor. A atividade de ruminação (Tabela 9) não teve relação inversa com a TR e FR (Tabela 6) (MOALLEM et al., 2010; SORIANI; PANELLA; CALAMARI, 2013).

A gasometria venosa também foi similar entre tratamentos (Tabela 10), valores sanguíneos não foram sugestivos de que houve alcalose respiratória nos animais com hipertermia (SCHNEIDER et al., 1984, 1988). A similaridade entre tratamentos no tempo diário de decúbito (Tabela 9) e no teor de glicose no plasma (Figura 4) também sugere que os animais foram capazes de lidar com ambiente térmico de forma similar. O relacionamento negativo entre o CMS (Tabela 7) e a TR e FR entre tratamentos, em uma mesma taxa de sudorese (Tabela 6), sugere que o menor CMS nos tratamentos com gordura de palma, e a consequente queda no calor metabólico e ruminal, pode ter reduzido o incremento calórico.

Os dados, descrevendo o conforto térmico dos animais, sugerem que o menor CMS induzido pela suplementação com lípides de palma determinou a menor temperatura corporal, reduzindo o gasto energético para a manutenção da homeotermia (FOX; TYLUTKY, 1998). Queda na exigência nutricional de manutenção nas dietas L e S pode ter colaborado para a maior eficiência de utilização energética nesses tratamentos, mensurada pela relação Leite E/CMOD (Tabela 7). Vacas leiteiras em estresse calórico são sabidamente mais dependentes de glicose em vez de ácidos graxos de cadeia longa para suprimento

da demanda energética (WHEELLOCK et al., 2010). Nesse caso, menor uso de glicose para manutenção não se refletiu em aumento no teor plasmático de glicose (Figura 4), mas em maior síntese de lactose no leite (Tabela 7). Queda sutil na temperatura corporal pode ter aumentado a produção hepática de IGF (RHOADS et al., 2009, 2010) e reduzido o gasto energético de manutenção, uma explicação plausível para o maior desempenho leiteiro em menor CMS, em concentração similar de glicose no sangue.

Tabela 10 Balanço ácido-base do sangue venoso nas semanas 2, 4, 6 e 8 nos tratamentos Controle (C), Lactat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S)

	C	L	S	EPM ¹	Valores de P ²					
					T	TxTp	CL	CS	CG	LS
pCO ₂ , ³ mm Hg	37,5	36,8	37,1	0,44	0,59	0,65	0,31	0,56	0,35	0,64
pO ₂ , ³ mm Hg	32,2	33,5	32,0	1,10	0,56	0,52	0,40	0,88	0,67	0,31
pH	7,48	7,49	7,47	0,008	0,22	0,53	0,65	0,22	0,65	0,09
HCO ₃ ⁻ , mmol/L	27,2	27,4	26,6	0,49	0,32	0,68	0,73	0,15	0,29	0,26
CO ₂ total, mmol/L	28,7	28,5	27,8	0,50	0,37	0,65	0,70	0,17	0,31	0,32
EBase, ³ mmol/L	4,76	5,35	3,75	0,700	0,27	0,59	0,55	0,31	0,81	0,11
SatO ₂ , ³ %	63,4	65,8	64,3	1,98	0,72	0,74	0,43	0,76	0,52	0,61
O ₂ ct, ³ %	14,5	16,1	14,4	0,66	0,17	0,24	0,11	0,95	0,35	0,09

¹ EPM = Erro padrão das médias

² T = tratamento, Tp = Tempo, TxTp = interação entre tratamento e tempo. Contrastes: CL = Controle vs Lactat, CS = Controle vs Sal de cálcio de óleo de palma, CG = Controle vs (L+S), LS = Lactat vs Sal de cálcio de óleo de palma

³ pCO₂ = pressão parcial de CO₂. pO₂ = pressão parcial de O₂. EBase = excesso de base. SatO₂ = saturação de oxigênio da hemoglobina. O₂ct = oxigênio no volume total

Além do efeito positivo da suplementação lipídica sobre a exigência nutricional de manutenção, decorrente do menor incremento calórico, o menor

consumo de amido nos tratamentos L e S em relação ao controle, 400 e 500 g respectivamente, pode ter reduzido o teor plasmático de insulina. A insulina é normalmente alta em vacas sob estresse por calor, uma forma de direcionar o uso da glicose para tecidos periféricos, o que reduz a prioridade de uso pela glândula mamária (RHOADS et al., 2009; WHEELLOCK et al., 2010). Queda na insulina plasmática pode ter aumentado a disponibilidade de glicose para a glândula mamária, coerente a aumento na síntese de lactose (Tabela 7), mas sem induzir aumento no teor de glicose no plasma (Figura 4). Em ratos, a oferta crônica de dieta com alto teor lipídico induz queda na oxidação de glicose e na secreção de insulina (TAKAHASHI; CURI; CARPINELLI, 1991), outro mecanismo plausível para aumento na disponibilidade de glicose para a glândula mamária em resposta ao aporte de gordura de palma.

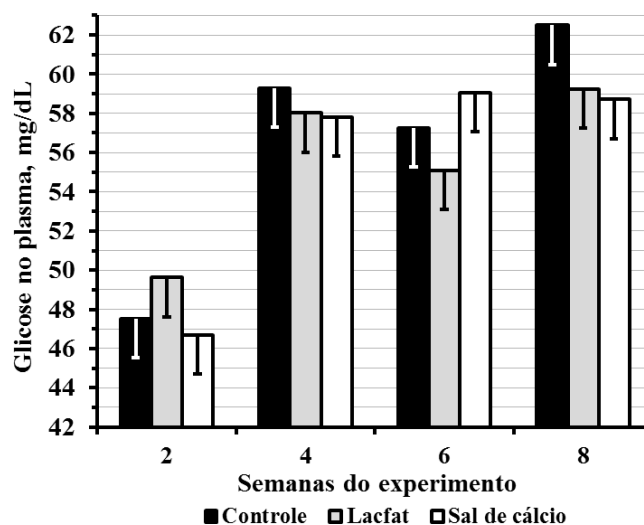


Figura 4 Teor de glicose no plasma nos tratamentos Controle (56,6 mg/dL), Lacfat (55,5 mg/dL) e sal de cálcio de óleo de palma (55,6 mg/dL)

Legenda: Valores de *P*: 0,63 para tratamento, 0,50 para a interação entre tratamento e semana. Contrastes: 0,39 Controle vs. Lacfat, 0,42 Controle vs. Sal de cálcio de óleo de palma, 0,33 Controle vs (L+S), 0,94 Lacfat vs Sal de cálcio de óleo de palma.

Neste trabalho, distintamente de ensaios nutricionais onde estresse calórico foi induzido sob condições controladas (RHOADS et al., 2009), as vacas foram expostas ao período quente do ano em uma condição de fazenda. O manejo nutricional e as instalações foram aparentemente capazes de evitar sinais severos de estresse calórico, como já discutido, mas não eliminaram o efeito dos tratamentos sobre a homeotermia, mensurada pelas TR e FR. Nesse caso, não houve queda severa no peso vivo, como ocorre em condições experimentais de indução de estresse calórico. A se julgar pelo ganho de peso vivo (Figuras 5), os animais estavam em balanço energético positivo ao longo do experimento. Esse fato pode explicar o fato da queda no CMS induzida pela suplementação lipídica não ter sido acompanhada por queda no desempenho leiteiro. O ganho em desempenho leiteiro pode ter decorrido de melhora sutil na eficiência energética e no direcionamento da glicose sanguínea para a glândula mamária, em animais com demanda nutricional decrescente (meio e final da lactação) e alimentados com dieta de alto conteúdo calórico relativamente à demanda nutricional. Esses resultados sugerem que baixo consumo de amido associado a alto consumo de energia oriundo de lípidos pode ser uma estratégia alimentar plausível para aumentar a eficiência alimentar em vacas sujeitas a estresse calórico.

Não houve diferença entre tratamentos na DEE (Tabela 8). A digestibilidade do EE foi, em média, 70,7% do ingerido, coerente ao valor de uma dieta com alta proporção de lípidos oriundos de milho, soja e caroço de algodão, ricos em ácido linoléico, cuja digestibilidade é ao redor de 73% do ingerido (SCHMIDELY et al., 2008), acrescida de ácidos graxos saturados de palma, com digestibilidade ao redor de 68% (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001). Quando o teor de ácido oleico na dieta foi aumentado de 0,16% para 0,42% da MS (Tabelas 4 e 5), por substituição de Lacfat rico em ácido palmítico por sal de cálcio de óleo de palma, mais rico em oleico, não houve queda na DEE (Tabela 8). A digestibilidade aparente dos ácidos graxos no

trato digestivo total caiu quando o teor da AG da dieta foi aumentado de 2,52 para 4,47% da MS com ácido palmítico em forma pura (PIANTONI; LOCK; ALLEN, 2013). No nível de inclusão e estratégia de suplementação lipídica adotada neste experimento, a digestibilidade dos lípides não foi uma explicação plausível para o melhor desempenho leiteiro na dieta S.

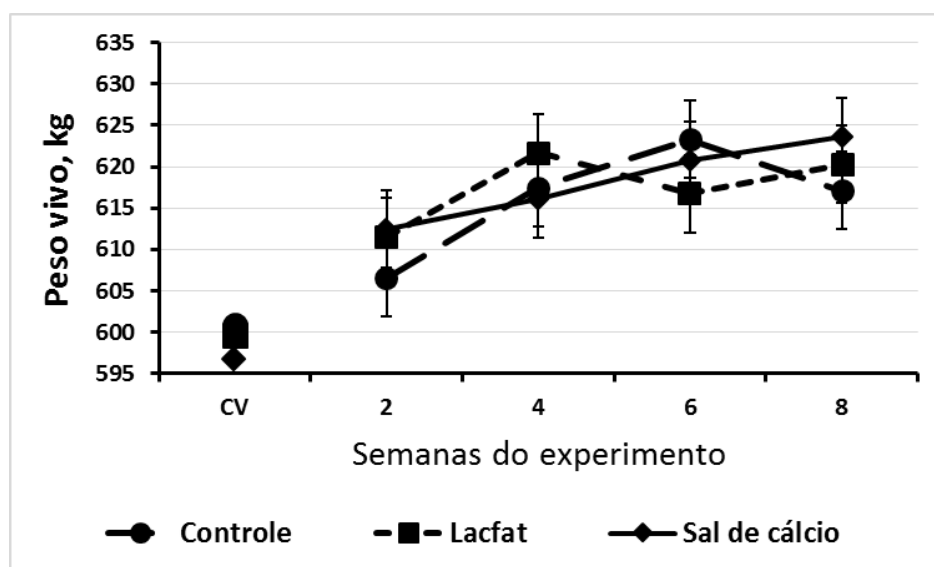


Figura 5 Peso vivo nos tratamentos Controle (616 kg), Lacfat (617 kg) e sal de cálcio de óleo de palma (618 kg)

Legenda: CV = peso no final do período de padronização. Valores de *P*: 0,87 para tratamento, 0,02 para semana, 0,66 para interação entre tratamento e semana. Contrastes: 0,77 Controle vs. Lacfat, 0,61 Controle vs. Sal de cálcio de óleo de palma, 0,64 Controle vs (L+S), 0,81 Lacfat vs Sal de cálcio de óleo de palma.

Não foi evidenciado efeito negativo das fontes lipídicas sobre a DFDN (Tabela 8). A similaridade no teor de protozoários no fluído ruminal e na síntese de proteína microbiana (Tabela 11) sugerem que as fontes de gordura de palma não deprimiram a função ruminal. Houve tendência ($P < 0,08$) de queda nas DMS e DMO na dieta S, contribuindo para a queda observada no CMOD neste

tratamento (Tabela 7). O consumo de energia líquida para lactação foi levemente inferior em S, com valores para C, L e S de 34,3, 34,5 e 33,9 Mcal/d, respectivamente, segundo predição do modelo do NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001). O melhor desempenho leiteiro na dieta S (Tabela 7), mesmo com menor consumo predito de energia líquida (mesma exigência energética de manutenção e eficiências de utilização energia nos tratamentos), suporta a hipótese de que houve menor gasto energético de manutenção nesse tratamento, ou melhoria na conversão energética.

Tabela 11 Ácidos graxos voláteis (AGV) e protozoários no fluido ruminal e excreção de alantoína na urina (Ala) nos tratamentos Controle (C), Lacfat (L) e sal de cálcio de óleo de palma (S)

	C	L	S	EPM ¹	Valores de P ²				
					T ²	CL	CS	CG	LS
Acetato, % dos AGV	57,2	60,4	56,3	1,32	0,09	0,10	0,59	0,51	0,03
Propionato, % dos AGV	31,1	25,9	29,3	1,43	0,05	0,02	0,39	0,06	0,10
Butirato, % dos AGV	11,7	13,7	14,4	0,58	0,01	0,02	0,01	0,01	0,37
Acetato/Propionato	1,89	2,39	1,98	0,15	0,06	0,02	0,68	0,12	0,06
Protozoários, x 10 ⁵ /ml	3,46	3,99	3,76	0,50	0,76	0,46	0,67	0,51	0,74
Ala, mmol/d	189	215	176	18,3	0,33	0,33	0,61	0,71	0,12
Ala/CMOD, ³ mmol/kg	14,5	15,9	13,9	1,26	0,53	0,46	0,75	0,80	0,27

¹ EPM = Erro padrão das médias

² T = tratamento. Contrastes: CL = Controle vs Lacfat, CS = Controle vs Sal de cálcio de óleo de palma, CG = Controle vs (L+S), LS = Lacfat vs Sal de cálcio de óleo de palma

³ Ala/CMOD = Alantoína por consumo de matéria orgânica digestível

Inesperadamente, a DPC, supostamente representativa da digestibilidade aparente da proteína e CNF não-amiláceo, foi menor na dieta S. O sal de cálcio de óleo de palma pode ter afetado a degradabilidade ruminal da pectina nos alimentos, já que a similaridade entre tratamentos no NUL (Tabela 7),

parcialmente determinado pela degradabilidade da proteína no rúmen (ou pela desaminação hepática de aminoácidos mobilizados dos músculos, teoricamente constante nesses animais em balanço energético positivo), bem como na síntese diária de proteína no leite (Tabela 7) e na estimativa de fluxo de proteína microbiana (Tabela 11), sugerem que não houve variação na digestão proteica. O efeito da fonte lipídica sobre a digestibilidade (Tabela 7) e sobre o perfil de fermentação ruminal (Tabela 11) indica que as fontes não foram igualmente inertes no rúmen. A dieta L aumentou a relação entre acetato e propionato no fluido ruminal, coerente à queda no consumo diário de amido nesse tratamento. Entretanto, a relação entre esses ácidos foi reduzida a valor similar ao da dieta C no tratamento S. Menor relação entre acetato e propionato é um indicador de que houve aumento na eficiência da fermentação ruminal, por ser sugestivo de menor produção de metano por unidade de energia digerida, outra explicação plausível para a maior eficiência Leite E/CMOD na dieta S (Tabela 7). Rico, Ying e Harvatine. (2014b) observaram que 2% da MS de ácidos graxos de sais de cálcio de óleo de palma deprimiram a síntese mamária de ácidos graxos de cadeia curta comparativamente a BergaFat. A liberação e biohidrogenação incompleta de ácido oléico no rúmen é um mecanismo plausível para o efeito da fonte lipídica sobre a fermentação ruminal (MOSLEY et al., 2002; PROELL et al., 2002). A suplementação de vacas leiteiras com BergaFat aumentou a incorporação de C16:0 na gordura do leite sem afetar a síntese *de novo* (LOCK et al., 2013) sugerindo que o Lacfat foi mais inerte no rúmen que sal de cálcio de óleo de palma.

5 CONCLUSÕES

A suplementação de vacas leiteiras em fase mediana da lactação expostas ao calor com gordura de palma, em dieta basal contendo alto teor lipídico oriundo de oleaginosas, aumentou a eficiência leiteira por aumentar a produção de leite em menor CMS. A resposta foi aparentemente mediada pelo menor incremento calórico nas dietas com lípide suplementar.

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.
- ARAKI, C. T. et al. Effect of lactation on diurnal temperature patterns of dairy cattle in hot environments. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 8, p. 1752-1760, 1984.
- ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling: nutrition and heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2044-2050, 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**: volume 1. 12. ed. Washington: AOAC, 1975. 1094 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**: volume 1. 15. ed. Arlington: AOAC, 1990. 1117 p.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, Amsterdam, n. 70, p. 15-29, 2001.
- BAUMGARD, L. H. et al. Postabsorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 11, p. 5620-5633, 2011.
- BEAM, T. M. et al. 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.
- BEEDE, D. K.; COLLIER, R. J. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, n. 2, p. 543-554, Feb. 1986.
- BERMAN, A. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 1377-1383, 2005.
- BERMAN, A. et al. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 6, p. 1488-1495, 1985.

BERMAN, A. Invited review: are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 5, p. 2147-2158, 2011.

BERNABUCCI, U. et al. Influence of short-and long-term exposure to a hot environment on rumen passage rate and diet digestibility by Friesian heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 5, p. 967-973, May 1999.

BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. B. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 4, p. 1947-1956, 2007.

BRASIL. Instrução Normativa n. 8, de 25 de março de 2004. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 mar. 2004. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=178957228>>. Acesso em: 27 jul. 2015

BRECKENRIDGE, W. C.; KUKSIS, A. Specific distribution of short-chain fatty acids in molecular distillates of bovine milk fat. **Journal of Lipid Research**, Amsterdam, v. 9, p. 388-393, 1968.

BROOKS, C. C.; GARNER, G. B.; GEHRKE, C. W. The effect of added fat on the digestion of cellulose and protein by ovine rumen microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 13, p. 758-764, 1954.

CANT, J. P.; DEPETERS, E. J.; BALDWIN, R. L. Mammary uptake of energy metabolites in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 8, p. 2254-2265, 1993.

CHALUPA, W. et al. Ruminant fermentation in vitro as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 5, p. 1293-1301, 1986.

CHALUPA, W. et al. Ruminant fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 7, p. 1439-1444, 1984.

CHAN, S. C. et al. Effects of ruminally inert fat and evaporative cooling on dairy cows in hot environmental temperatures. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 6, p. 1172-1178, 1997.

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 the technical details. In: INTERNATIONAL FEED RESOURCES UNIT, 1992, Aberdeen. **Proceedings...** Aberdeen: [s.n.], 1992. p. 1-20.

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.

CHOI, B. R.; PALMQUIST, D. L.; ALLEN, M. S. Sodium mercaptoacetate is not a useful probe to study the role of fat in regulation of feed intake in dairy cattle. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 127, p. 171-176, 1997.

CHRISTOPHERSON, R. J.; KENNEDY, P. M. Effect of the thermal environment on digestion in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 63, n. 3, p. 477-496, Sept. 1983.

COLLIER, R. J. et al. Shade management in subtropical environment for milk yield and composition in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, n. 5, p. 844-849, 1981.

DEHORITY, B. A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 48, n. 1, p. 182-185, 1984.

DEPETERS, E. J. et al. Effects of feeding whole cottonseed on composition of milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 4, p. 897-902, 1985.

DIAS JÚNIOR, G. S. **Desempenho de vacas leiteiras suplementadas com sal de cálcio rico em ácido linoléico ou grão de soja tostada**. 2011. 75 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

DIKMEN, S. et al. Differences in thermoregulatory ability between slick-haired and wild-type lactating Holstein cows in response to acute heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 9, p. 3395-3402, 2008.

DIKMEN, S.; HANSEN, P. J. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 1, p. 109-116, 2009.

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

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 2259-2273, 1999.

DRACKLEY, J. K. et al. Infusion of long-chain fatty acids varying saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1517-1526, 1992.

DRACKLEY, J. K.; CICELA, T. M.; LACOUNT, D. W. Responses of primiparous and multiparous Holstein cows to additional energy from fat or concentrate during summer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 4, p. 1306-1314, 2003.

DRACKLEY, J. K.; ELLIOTT, J. P. Milk composition, ruminal characteristics, and nutrient utilization in dairy cows fed partially hydrogenated tallow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 183-196, 1993.

ELLIOTT, J. P.; OVERTON, T. R.; DRACKLEY, J. K. Digestibility and effects of three forms of mostly saturated fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 3, p. 789-798, 1994.

ELLIOTT, J. P.; DRACKLEY, J. K.; WEIGEL, D. J. Digestibility and effects of hydrogenated palm fatty acid distillate in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 6, p. 1031-1039, 1996.

ENJALBERT, F. et al. Duodenal infusions of palmitic, stearic or oleic acids differently affect mammary gland metabolism of fatty acids in lactating dairy cows. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 128, p. 1525-1532, 1998.

ENJALBERT, F. et al. Effects of duodenal infusions of palmitic, stearic, or oleic acids on milk composition and physical properties of butter. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 7, p. 1428-1433, 2000.

FERREIRA NETO, J. M.; VIANA, E. S.; MAGALHÃES, L. M. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo, 1981. 293 p.

FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L. Assessment of the effects of iodine value on fatty acid digestibility, feed intake, and milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 2357-2366, 1994.

FOX, D. G.; TYLUTKI, T. P. Accounting for the effects of environment on the nutrient requirements of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 11, p. 3085-3095, 1998.

GAYNOR, P. J. et al. Milk fat yield and composition during abomasal infusion of *cis* or *trans* octadecenoates in holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 1, p. 157-165, 1994.

GRIINARI, J. M. et al. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows¹. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1251-1261, 1998.

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

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

GRUMMER, R. R.; LUCK, M. L.; BARMORE, J. A. Rumen fermentation and lactation performance of cows fed roasted soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 9, p. 2674-2681, 1993.

HALES, J. R. S. et al. Redistribution of cardiac output and skin AVA activity in sheep during exercise and heat stress. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 9, p. 113-116, 1984.

HALL, M. B. Analysis of starch, including maltooligosaccharides, in animal feeds: A comparison of methods and a recommended method for AOAC collaborative study. **Journal of Association Official Analytical Chemistry**, Washington, v. 92, p. 42-49, 2009.

HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P. N.; STEWART, D. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1997. p. 382-426.

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

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. The effect of production level on feed intake, milk yield, and endocrine responses to two fatty acid supplements in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 11, p. 4018-4027, 2005.

HOFFMAN, P. C. et al. Feeding to early supplemental fat and undegraded intake protein lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3468-3474, 1991.

IGONO, M. O. et al. Physiological, productive, and economic benefits of shade, spray, and fan system versus shade for Holstein cows during summer heat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, n. 5, p. 1069-1079, 1987.

IGONO, M. O. et al. Spray cooling effects on milk production, milk, and rectal temperatures of cows during a moderate temperate summer season. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 4, p. 979-985, 1985.

IGONO, M. O.; BJOTVEDT, G.; SANFORD-CRANE, H. T. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holstein cows in desert climate. **International Journal of Biometeorology**, Lisse, v. 36, p. 77-87, 1992.

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

JENKINS, T. C.; HARVATINE, K. J. Lipid feeding and milk fat depression. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 30, p. 623-642, 2014.

JENKINS, T. C.; JENNY, B. F. Effect of hydrogenated fat on feed intake, nutrient digestion, and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 9, p. 2316-2324, 1989.

JENKINS, T. C.; PALMQUIST, D. L. Effect of added fat and calcium on in vitro formation of insoluble fatty acids soaps and cell wall digestibility. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 55, n. 4, p. 957-963, 1982.

JENSEN, R. G. et al. Invited review: the composition of bovine milk lipids: january 1995 to december 2000. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 295-350, 2002.

JERRED, M. J. et al. Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on lactation performance of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 10, p. 2842-2854, 1990.

KADZERE, C. T. et al. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 77, p. 59-91, 2002.

KNAPP, D. M.; GRUMMER, R. R. Response of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 8, p. 2573-2579, 1991.

KNAPP, D. M.; GRUMMER, R. R.; DENTINE, M. R. The response of lactating dairy cows to increasing levels of whole roasted soybeans. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 8, p. 2563-2572, 1991.

LITTELL, R. C. et al. **SAS[®] System for mixed models**. Cary: SAS Institute, 1996. 633 p.

LOCK, A. L. et al. 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, n. 10, p. 6650-6659, 2013.

LUCAS, H. L.; LOOSLI, J. K. The effect of fat upon the digestion of nutrients by dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 3, n. 4, p. 3-9, 1944.

MACLEOD, G. K.; BUCHANAN-SMITH, J. G. Digestibility of hydrogenated tallow, saturated fatty acids and soybean oil-supplemented diets by sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 35, n. 4, p. 890-895, 1972.

MCGUIRE, M. A. et al. Effects of thermal stress and level of feed intake on portal plasma flow and net fluxes of metabolites in lactating Holstein cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, n. 4, p. 1050-1060, Apr. 1989.

MOALLEM, U. et al. Performance of high-yielding dairy cows supplemented with fat or concentrate under hot and humid climates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 7, p. 3192-3202, 2010.

MOHAMED, O. E. et al. Influence of dietary cottonseed and soybean on milk production and composition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 10, p. 2677-2688, 1988.

MOODY, E. G. et al. Effect of high temperature and dietary on performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 50, n. 12, p. 1909-1916, 1967.

MOSLEY, E. E. et al. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. **Journal of Lipid Research**, Amsterdam, v. 43, p. 290-296, 2002.

MOSLEY, S. A. et al. Effect of varying levels of fat acids from palm oil on feed intake and milk production in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 2, p. 987-993, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Effect of environment on nutrient requirements of domestic animals**. Washington: National Academy of Sciences, 1981. 168 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academy of Sciences, 2001. 381 p.

NERI, J. **Ambiente térmico em confinamentos de gado leiteiro no Brasil**. 2013. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

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

PALMQUIST, D. L.; CONRAD, H. R. High fat rations for dairy cows. Effects on feed intake, milk and fat production, and plasma metabolites. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 61, n. 7, p. 890-901, 1978.

PALMQUIST, D. L.; CONRAD, H. R. High fat rations for dairy cows tallow and hydrolyzed blended fat at two intakes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 3, p. 391-395, 1980.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 4, p. 1020-1025, 1980.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C.; JOYNER JÚNIOR, A. E. Effect of dietary fat and calcium source on insoluble soap formation in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 4, p. 1020-1025, 1986.

PANTOJA, J. et al. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 2341-2356, 1994.

PANTOJA, J.; FIRKINS, J. L.; EASTRIDGE, M. L. Fatty acid digestibility lactation performance by dairy cows fed fats varying in degree of saturation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, p. 429-437, 1996.

PIANTONI, P.; LOCK, A. L.; 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, n. 11, p. 7143-7154, 2013.

PIRES, A. V.; EASTRIDGE, M. L.; FIRKINS, J. L. Roasted soybeans, blood meal, and tallow as sources of fat and ruminally undegradable protein in the diets of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 9, p. 1603-1610, 1996.

PROELL, J. M. et al. Isomerization of stable isotopically labeled elaidic acid to cis and trans monoenes by ruminal microbes. **Journal of Lipid Research**, Champaign, v. 43, p. 2072-2076, 2002.

RABIEE, A. R. et al. 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, n. 6, p. 3225-3247, 2012.

REIDELBERGER, R. D. Cholecystokinin and control of food intake. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 124, p. 1327S-1333S, 1994.

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, n. 3, p. 1506-1515, 2007.

RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and nutrition on lactating Holstein cows: II. Aspects of hepatic growth hormone responsiveness. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 1, p. 170-179, 2010.

RHOADS, M. L. et al. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 5, p. 1986-1997, 2009.

RICO, D. E.; YING, Y. HARVATINE. K. J. Comparison of enriched palmitic acid and calcium salts of palm fatty acids distillate fat supplements on milk production and metabolic profiles of high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 9, p. 5637-5644, 2014b.

RICO, D. E.; YING, Y.; HARVATINE, K. J.; Effect of high-palmitic acid fat supplement on milk production and apparent total-tract digestibility in high-and low-milk yield dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 6, p. 3739-3751, 2014a.

RICO, J. E.; ALLEN, M. S.; LOCK, A. L. Compared with stearic acid, palmitic acid increased the yield of milk fat and improved feed efficiency across production level of cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 2, p. 1057-1066, 2014.

SAINT-PIERRE, N. R.; COBANOV, B.; SCHNITKEY, G. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. E52-E77, 2003.

SALVATI, G. G. S. et al. Response of lactating cows to live yeast supplementation during summer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 6, p. 4062-4073, 2015.

SANTOS, J. E. P.; GRECO, L. F. Recentes avanços em suplementação de ácidos graxos de cadeia longa para vacas leiteiras. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6., 2010, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2010, p. 375-386.

SCHAUFF, D. J. et al. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing whole soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 7, p. 1923-1935, 1992.

SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 11, p. 2990-3002, 1992.

SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing extruded soybeans and calcium salts of

long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 11, p. 3003-3019, 1992.

SCHLEGER, A. V.; TURNER, H. G. Sweating rates of cattle in the field and their reaction to diurnal and seasonal changes. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 16, p. 92-106, 1965.

SCHMIDELY, R. et al. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1 Total fatty acids. **Animal**, Cambridge, v. 2, n. 5, p. 677-690, May 2008.

SCHNEIDER, P. et al. Feeding calcium salts of fatty acids to lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 8, p. 2143-2150, 1988.

SCHNEIDER, P. L. et al. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 11, p. 2546-2553, Nov. 1984.

SCHNEIDER, P. L.; BEEDE, D. K.; WILCOX, C. J. Effects of supplemental potassium and sodium chloride salts on ruminal turnover rates, acid-base and mineral status of lactating dairy cows during heat stress. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 1, p. 126-135, Jan. 1988.

SELNER, D. R.; SHULTZ, L. H. Effects of feeding oleic acid or hydrogenated vegetable oils to lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 63, p. 1235-1241, 1980.

SHWARTZ, G. et al. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 3, p. 935-942, 2009.

SILANIKOVE, N.; TADMORE, A. Rumen volume, saliva flow rate, and systemic fluid homeostasis in dehydrated cattle. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 256, p. R809-R815, 1989.

SMITH, N. E. et al. Digestibility and effects of whole cottonseed fed to lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, n. 11, p. 2209-2215, 1981.

SMITH, N. E.; DUNKLEY, W. L.; FRANKE, A. A. Effect of feeding protected tallow to dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 61, p. 747-756, 1978.

SORIANI, N.; PANELLA, G.; CALAMARI, L. Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 8, p. 5082-5094, Aug. 2013.

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. 1784-1797, 1990.

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

SUKSOMBAT, W. Improving the productivity of lactating dairy cows through supplementation. **International Dairy Topics**, Easton, v. 8, n. 1, p. 7, 2009.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.

TAKAHASHI, R. F.; CURI, R.; CARPINELLI, A. R. Insulin secretion to glucose stimulus in pancreatic islets isolated from rats feed unbalance diets. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 50, n. 4, p. 787-791, 1991.

WANG, J. P. et al. Effect of saturated fatty acid supplementation on production and metabolism indices in heat-stressed mid-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 9, p. 4121-4127, 2010.

WEST, J. W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 6, p. 2131-2144, 2003.

WHEELOCK, J. B. et al. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 2, p. 644-655, 2010.

WHITE, T. W. et al. Effect of supplemental fat on digestion and the ruminal calcium requirement of sheep. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 17, n. 3, p. 797-803, 1958.

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

WRIGHT, T. C.; CANT, J. P.; MCBRIDE, B. W. Inhibition of fatty acid synthesis in bovine mammary homogenate by palmitic acid is not a detergent effect. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 2, p. 642-647, 2002.

WU, Z. et al. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 6, p. 1644-1651, 1994.

WU, Z. et al. Effect of three supplemental fat sources on lactation and digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 11, p. 3562-3570, 1993.

WU, Z.; OHAJURUKA, O. A.; PALMQUIST, D. L. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 9, p. 3025-3034, 1991.

WU, Z.; PALMQUIST, D. L. Synthesis and biohydrogenation of fatty acids by ruminal microorganisms in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 9, p. 3035-3046, 1991.

YOUSEF, M. K. **Stress physiology in Livestock**. Boca Raton: CRC Press, 1985.

ZIMBELMAN, R. B. et al. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. **Southwest Nutrition & Management Conference**, Western Dairy Management Conference, p. 158-169, 2009.