

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

**EFEITO DE DIETAS COM FONTES LIPÍDICAS E GLICONEOGÊNICAS NO
PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE PRIMÍPARAS LEITEIRAS SOBRE: PERFIL
METABÓLICO, PRODUÇÃO DE LEITE E REPRODUÇÃO**

MARIA ALEXANDRA TORRES ARTUNDUAGA

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2009**

Maria Alexandra Torres Artunduaga

**EFEITO DE DIETAS COM FONTES LIPÍDICAS E GLICONEOGÊNICAS NO
PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE PRIMÍPARAS LEITEIRAS SOBRE: PERFIL
METABÓLICO, PRODUÇÃO DE LEITE E REPRODUÇÃO**

Tese apresentada à Escola de Veterinária
da Universidade Federal de Minas Gerais,
como requisito parcial para a obtenção do
grau de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Sandra Gesteira Coelho

Coorientador: Ângela Maria Quintão Lana

José Reinaldo Mendes Ruas

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2009**

Artunduaga, Maria Alexandra Torres, 1977-

Efeito de dietas com fontes lipídicas e gliconeogênicas no período de transição de primíparas leiteiras sobre: perfil metabólico, produção de leite e reprodução / Maria Alexandra Torres Artunduaga. – 2009.

95 p. : il.

Orientador: Sandra Gesteira Coelho

Co-orientador: Ângela Maria Quintão Lana, José Reinaldo Mendes Ruas

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1. Vaca – Alimentação e rações – Teses. 2. Vaca – Reprodução – Teses. 3. Dieta em veterinária – Teses. 4. Leite – Produção – Teses. I. Coelho, Sandra Gesteira. II. Lana, Ângela Maria Quintão. III. Ruas, José Reinaldo Mendes. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

CDD – 636.214 085

Tese defendida e aprovada em 6 de Março de 2009 pela comissão examinadora constituída por:



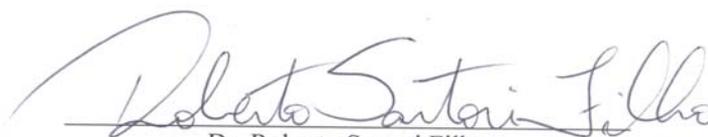
Prof. Sandra Gesteira Coelho
Orientadora



Prof. Helton Mattana Saturnino



Prof. Alán Maia Borges



Dr. Roberto Sartori Filho



Dr. Jo L.M.R. Leroy

*Dedico este trabalho
Aos meus pais
À minha irmã e
Aos meus avos, fonte de eterna inspiração.*

“O conhecimento é problema da ciência e esta não admite desonestidade nem arrogância; o que exige é certamente o contrário: honestidade e modéstia”.

Mao Tsetung

AGRADECIMENTOS

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação e ao convenio CAPES PEC-PG pela concessão da bolsa de Doutorado.

À FAPEMIG pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

À QGN pelo apoio durante todo o experimento e pelo fornecimento do Megalac-E.

À Cooperalfa pelo fornecimento da soja tostada.

À Total Alimentos S.A pelo fornecimento do propileno glicol.

À Nutron pela realização das análises dos alimentos.

Ao Sr. Miguel Furtado Neto pela confiança e enorme contribuição à pesquisa, permitindo a realização deste trabalho na Fazenda Bom Jardim.

À Professora Sandra Gesteira Coelho, pelo exemplo profissional, pela orientação, apoio, dedicação e amizade.

Ao Alan Maia Borges, pelas sugestões e colaboração imensuráveis durante todo experimento.

À Professora Ângela Maria Quintão Lana, pela amizade e colaboração na análise estatística.

Ao Professor Ronaldo Braga Reis pelos ensinamentos.

Aos Professores, Helton Mattana Saturnino, Antônio Último de Carvalho e Elias Jorge Facury Filho pelo carinho apoio e amizade.

Ao Jo L.M.R. Leroy e Roberto Sartori Filho pelos valiosos aportes científicos e pela ajuda durante a finalização deste trabalho.

Ao Professor Jose Luiz Moraes Vasconcelos, pela amizade e apoio.

Aos Professores Candido Celso Coimbra e Adelina Reis pelo apoio e orientações na dosagem de hormônios e metabólitos.

Aos funcionários do laboratório de Fisiologia e Bioquímica no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, especialmente à Janine e Kinulpe pela ajuda na realização das dosagens de hormônios e metabólitos.

Aos funcionários do departamento de Zootecnia da UFMG , especialmente ao Marcos, Heloisa e Nilda pela valiosa colaboração.

À todos os estagiários que colaboraram na realização do experimento.

Aos amigos e companheiros de experimento Betânia e Gustavo pelo convívio, e por saber compartilhar as alegrias e dificuldades durante todo o experimento.

Aos amigos, Amauri, Marcia, Paulo Jose, Junior, Clovis, Hudson, Silvino, Rosangela, Serginho, Paulo Henrique (PH), Flavinha, João Paulo, Thais, Bambui, Dorinha, Helio, Nélio, Jeferson, Joaquina, Gilberto, Euler, Gabriel, Pedro, Thelma, Bruna, José Reinaldo, Paulo Sergio, pelos bons momentos.

Aos meus amigos e irmãos Ângelo, Bolívar, Marcelli e Fabiana pela convivência, compreensão e apoio.

Aos amigos e colegas da pós-graduação, em especial à Claudia, Bel e Tatiana pela amizade e bons momentos.

Ao Robson, por estar do meu lado em todo momento, pelo carinho e amizade, pela convivência durante estes anos, pela confiança e estímulo constantes, pelo exemplo de pessoa e profissional... À ele sempre estarei grata.

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Período de transição	16
2.1.1. Balanço energético negativo	18
2.2. Perfil metabólico de vacas no período de transição	19
2.3. Perfil hormonal de vacas no período de transição.....	22
2.4. Alternativas para diminuir o balanço energético negativo durante o período de transição	26
2.4.1. Gordura suplementar	26
2.4.1.1. Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados	30
2.4.1.2. Soja tostada	34
2.4.2. Aditivos gliconeogênicos (propileno glicol)	35
2.5. Endocrinologia da reprodução e dinâmica folicular no período de transição	37
2.6. Efeito da suplementação de diferentes fontes energéticas na produção de leite	40
3. MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1. Animais e tratamentos	43
3.2. Avaliações	45
3.2.1. Consumo de matéria seca e análises de alimentos	45
3.2.2. Escore de condição corporal (ECC) e peso corporal.....	46
3.2.3. Perfil metabólico e hormonal	46
3.2.4. Produção e composição de leite	46
3.2.5. Atividade ovariana	47
3.2.6. Avaliação zootécnica.....	48
3.3. Análise estatística.....	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1. Ingestão de matéria seca.....	48
4.2. Produção e composição do leite	49
4.3. Escore de condição corporal (ECC) e peso corporal.....	51
4.4. Perfil metabólico e hormonal	53
4.5. Avaliação folicular ovariana	62
4.5.1. Avaliações zootécnicas	85
5. CONCLUSÕES	86
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estimativa da captação mamária de nutrientes durante o início da lactação (4º dia) para uma vaca produzindo 30 kg de leite	17
Tabela 2. Composição de ácidos graxos de alguns alimentos	27
Tabela 3. Composição de ácidos graxos de alguns produtos comerciais	28
Tabela 4. Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais usadas no pré-parto	44
Tabela 5. Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais usadas no pós-parto	44
Tabela 6. Consumo do grupo em matéria seca (MS) da dieta por dia observado em vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição.....	45
Tabela 7. Ingredientes utilizados na mistura das diferentes fontes energéticas oferecidas antes da primeira alimentação do dia	49
Tabela 8. Média e desvio padrão da produção de leite, LCG 3,5%, LCST e composição do leite de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição	49
Tabela 9. Perfil de ácidos graxos dos aditivos SCAGP e soja tostada	50
Tabela 10. Efeito médio geral e desvio padrão de peso e escore de condição corporal (ECC) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição.....	52
Tabela 11. Efeito médio geral e desvio padrão das concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (mmol/l) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição, antes da primeira alimentação do dia nos diferentes grupos e dias de avaliação	54
Tabela 12. Efeito médio geral e desvio padrão das concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (mmol/l) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição, três horas após a primeira alimentação do dia nos diferentes grupos e dias de avaliação.....	55
Tabela 13. Efeito médio geral e desvio padrão da concentração de glicose plasmática (mg/dl) e de insulina (μ U/ml) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição, antes e três horas após a primeira alimentação do dia.....	57
Tabela 14. Efeito médio geral e desvio padrão das concentrações plasmáticas de IGF-I (ng/ml) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição, três horas após a primeira alimentação do dia, nos diferentes grupos e dias de avaliação.....	61
Tabela 15. Efeito médio geral e desvio padrão do diâmetro do folículo maior (mm), do volume do tecido luteal (cm ³), do intervalo parto primeira ovulação (dias) e número de ovulações segundo análise de progesterona plasmática (acima de 1 ng/mL) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição.....	84

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Mudanças metabólicas associadas ao início da lactação em ruminantes	20
Quadro 2. Mudanças nas concentrações plasmáticas de alguns hormônios homeorréticos e homeostáticos durante o período de transição	22
Quadro 3. Efeitos e locais de ação da insulina.....	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alterações no fluxo sanguíneo (5 em relação ao 10º dia pré-parto) da glândula mamária durante o período de transição	16
Figura 2. Comparação entre os valores estimados para captação de nutrientes pelo útero (250 dias de gestação) e pela glândula mamária (quatro dias pós-parto) em vacas holandesas	17
Figura 3. Concentrações plasmáticas de glicose (mmol/L) em vacas leiteiras durante o período de transição	21
Figura 4. Concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) em vacas leiteiras durante o período de transição.....	21
Figura 5. Concentrações séricas de insulina em vacas leiteiras durante o período de transição	23
Figura 6. Concentrações séricas de insulina e de hormônio de crescimento (GH) em vacas leiteiras durante o período de transição.....	24
Figura 7. Desaturação e alongamento dos ácidos graxos das famílias n-3 e n-6	29
Figura 8. Biohidrogenação do ácido linoléico pelas bactérias ruminais pertencentes aos grupos A e B.....	29
Figura 9. Variação no escore de condição corporal (ECC) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição	53
Figura 10. Variação no peso corporal durante o período de transição de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição	53
Figura 11. Concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (mmol/L), três horas após a primeira alimentação, de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição	56
Figura 12. Concentração plasmática de glicose (mg/dl), antes da primeira alimentação do dia, de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição	58
Figura 13. Concentração plasmática de insulina (μ U/mL), três horas após a primeira alimentação, de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição	58
Figura 14. Concentração plasmática de IGF-I (ng/mL) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição	60
Figura 15. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo controle	63
Figura 16. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo controle	64
Figura 17. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo controle	65
Figura 18. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo controle.....	66

Figura 19. Dinâmica folicular e volume de tecido luteal de vacas do grupo controle	67
Figura 20. Dinâmica folicular de vacas do grupo controle.....	67
Figura 21. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados.....	68
Figura 22. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados.....	69
Figura 23. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados.....	70
Figura 24. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados.....	71
Figura 25. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados.....	72
Figura 26. Dinâmica folicular de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados.....	72
Figura 27. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo soja tostada.....	73
Figura 28. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo soja tostada.....	74
Figura 29. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo soja tostada.....	75
Figura 30. Dinâmica folicular de vacas do grupo soja tostada.....	76
Figura 31. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo propileno glicol.....	77
Figura 32. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo propileno glicol.....	78
Figura 33. Dinâmica folicular e volume de tecido luteal de vacas do grupo propileno glicol.....	79
Figura 34. Dinâmica folicular de vacas do grupo propileno glicol.....	80
Figura 35. Dinâmica folicular de vacas do grupo propileno glicol.....	81

RESUMO

O aumento da disponibilidade de nutrientes gliconeogênicos e lipogênicos durante o período de transição tem sido considerado uma estratégia para melhorar o balanço energético e diminuir a incidência de distúrbios metabólicos e reprodutivos característicos do período de transição. O objetivo deste estudo foi o de avaliar o efeito da suplementação de fontes de gordura e aditivos gliconeogênicos sobre: i) perfil metabólico, ii) perfil hormonal, iii) a atividade ovariana e iv) produção e composição de leite em vacas primíparas durante o período de transição. 40 vacas primíparas holandesas receberam dieta base a partir das três semanas pré-parto até as seis semanas pós-parto. Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais sendo: controle, sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados de soja (SCAGP) (100g pré-parto e 250g pós-parto), soja grão tostada (400g pré-parto e 800g pós-parto) e propileno glicol (300mL pré e pós-parto). Os suplementos foram fornecidos individualmente. Os aditivos foram oferecidos do dia -21 (antes do parto) até o dia 21 pós-parto. Todas as dietas foram isocalóricas e isoprotéicas. Foram realizadas coletas de sangue para determinação das concentrações plasmáticas de insulina, glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNE), IGF-I e progesterona. O desenvolvimento folicular foi avaliado por ultra-sonografia a cada dois dias, do 10^o ao 46^o dia pós-parto. A produção de leite foi medida nos dias 10, 20, 30 e 40. Amostras de leite foram coletadas para análise da composição nestes mesmos dias. Não houve diferença entre os grupos para volume de leite produzido ($P=0,067$). Os grupos SCAGP e propileno glicol apresentaram maiores volumes de leite corrigido para 3,5% de gordura ($P=0,047$) quando comparados com o grupo soja tostada tendo o grupo controle apresentado resposta intermediária. Não houve diferença entre os grupos para os teores de proteína, gordura e sólidos totais ($P>0,05$). O teor de lactose foi maior no grupo propileno glicol ($P<0,05$). As maiores concentrações de insulina e glicose foram observadas no grupo SCAGP ($P<0,05$). O grupo propileno glicol apresentou os menores valores de insulina e glicose ($P>0,05$). Os AGNE foram significativamente menores em todos os grupos quando comparados com o grupo controle ($P<0,05$). As concentrações plasmáticas de IGF-I foram maiores nos grupos suplementados com gordura (SCAGP e soja tostada). O melhor padrão de crescimento folicular foi observado no grupo SCAGP. Não houve diferença no diâmetro do maior folículo e volume de tecido luteal entre os grupos. O intervalo parto-primeira ovulação foi maior para o grupo propileno glicol ($P<0,05$). A adição de gordura na forma de SCAGP foi capaz de amenizar as mudanças hormonais e metabólicas, características do período de transição. Os resultados obtidos neste experimento com a adição de propileno glicol não foram compatíveis com outros trabalhos em que se observou melhor dinâmica folicular e retorno à atividade ovariana cíclica pós-parto dos animais suplementados com propileno glicol durante o período de transição.

Palavras Chave: aditivos gliconeogênicos, gordura, lactação, pré-parto, pós-parto, reprodução

ABSTRACT

Increasing the availability of glucogenic and lipogenic nutrients during the transition period has been hypothesized to improve energy balance and to decrease the incidence and severity of metabolic and reproductive disorders in early lactation. Therefore, the objectives of this study were to compare the effects of a glucogenic or a lipogenic diet on blood metabolites, metabolic hormones, follicular dynamics and milk production and composition in primiparous dairy cows during the transition period. Cows (n= 40) were fed on a standard diet from wk 3 prepartum to wk 6 postpartum. Cows received either a lipogenic or glucogenic supplement during the transition period and were randomly assigned to 1 of 4 treatments as follows: control, calcium salts of soybean fatty acids - Megalac-E (100g prepartum and 250g postpartum), toasted soybean (400g prepartum and 800g postpartum) and propylene glycol (300 ml pre and postpartum). Diets were isocaloric (net energy basis). Blood samples were taken from each animal 10 and 5 days prior to the expected calving date and at days 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum. Ultrasound scanning was performed in all cows on Monday, Wednesday and Friday. Dominant follicle diameter and luteal volume tissue was determined for each cow. Follicles were classified according to diameter in classes I, II, III and IV. Interval from parturition to first post partum ovulation was determined. Milk production was recorded on days 10, 20, 30 and 40 postpartum and milk composition was determined on the same days. Milk yield did not differ among treatments (P=0.067). Yield of 3.5% fat corrected milk (FCM 3.5%) was higher for cows supplemented with Megalac-E and propylene glycol (P = 0,047) compared to other treatments. Milk protein and fat did not differ among treatments. Milk lactose content was higher for the propylene glycol treatment (P<0.05) when compared to other treatments. Insulin and glucose concentrations were significantly higher in the Megalac-E treatment (P<0.05). The lowest insulin and glucose concentrations were observed on cows supplemented with propylene glycol. Non esterified fatty acid concentration (NEFA) were lower for all treatments compared to control group (P<0.05). Plasma IGF-I concentration was higher for treatments receiving the lipogenic supplements (P<0.05). The best pattern of follicular classification was observed for the Megalac-E treatment. This particular group also showed the lowest interval from parturition to first post partum ovulation. (P<0.05). Overall, results suggest that calcium salts of soybean fatty acids reduced the dramatic metabolic and endocrine changes characteristic of the transition period, reflecting in improved energy balance which could be associated with better reproductive and productive performance.

Keywords: Glucogenic additives, lactation, lipogenic additives, pre partum, post partum, reproduction

1. INTRODUÇÃO

A resolução dos problemas reprodutivos no pós-parto de vacas de leite, reconhecidamente um dos principais fatores na produtividade do rebanho, não tem avançado de modo consistente em função da abordagem parcial da maioria das pesquisas empreendidas. Muitas vezes aprofundam-se o estudo de características ligadas à nutrição, e em outras à reprodução. Percebe-se hoje, a necessidade de enfrentar o problema através de abordagem multidisciplinar, envolvendo aspectos de nutrição e de reprodução, e de acordo com Lucy (2001) poucos são os grupos de pesquisa em todo o mundo que se dedicam a estes estudos.

Desta forma, embora os efeitos do balanço energético negativo sobre a reprodução estejam bem estabelecidos e demonstrem a necessidade de formulação de dietas para o período de transição que minimizem a queda na ingestão de matéria seca e a grande mobilização de reservas corporais no pós-parto, os indicadores de eficiência reprodutiva (intervalo de partos, período de serviço, taxa de concepção, etc) continuam demonstrando que, nas fazendas de gado leiteiro, este problema ainda não tem solução.

Grande parte dos estudos que estabeleceram os efeitos do balanço energético negativo foi direcionada para investigar os efeitos da dieta sobre o consumo de alimentos, a produção e composição do leite. Menor número preocupou-se em investigar os efeitos da nutrição sobre a reprodução e o perfil metabólico e hormonal. Estes últimos se

concentraram nos efeitos das diferentes fontes de gordura sobre a reprodução e suas conclusões demonstraram a necessidade de melhor compreensão do efeito das gorduras sobre o desempenho reprodutivo.

Por outro lado, nos estudos com aditivos gliconeogênicos o maior enfoque se deu em observações de seu efeito sobre as doenças metabólicas no pós-parto. Falta aprofundamento consistente sobre seu uso nas dietas de transição e efeitos sobre os parâmetros reprodutivos.

Desta forma o objetivo geral deste estudo foi o de conjugar o estudo de aspectos ligados à nutrição e à reprodução, confrontando os resultados da suplementação na dieta, durante o período de transição, de fontes de gordura com uma fonte gliconeogênica. Dentre os objetivos específicos se incluem a avaliação dos efeitos da suplementação de fontes de gordura e aditivos gliconeogênicos de vacas primíparas no período de transição sobre: i) perfil metabólico; ii) perfil hormonal; iii) a atividade ovariana; e iv) produção e composição de leite.

A importância de trabalhar com animais de primeiro parto radica em que esta categoria animal apresenta status metabólico diferente quando comparado com as múltiparas, já que estes animais apresentam ainda necessidades energéticas para crescimento, sendo que, as respostas metabólicas e hormonais destes animais poderiam auxiliar na determinação das necessidades energéticas e melhorar o manejo nutricional durante o período de transição.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Período de transição

O período de transição na vaca leiteira tem sido considerado como o período que compreende as três semanas pré e as três semanas pós-parto (Grummer, 1995; Drackley, 1999), sendo um período crítico para a saúde e a produtividade eficiente do animal. Neste período o animal passa do estado fisiológico gestante não lactante para lactante e essa transição está marcada por grandes mudanças endócrinas e metabólicas (Drackley, 1999). Segundo Grummer et al. (2004), o período de transição é determinante na vida produtiva do animal.

As alterações metabólicas observadas no período de transição podem ser divididas em duas partes: a primeira, pré-parto, fase na qual os estoques maternos de nutrientes são direcionados para o crescimento e sobrevivência fetal, além da preparação da glândula mamária para o início da lactação; e a segunda, pós-parto, onde o metabolismo materno está inteiramente voltado para a síntese de colostro e posterior produção de leite (Faria, 2006).

A fase pré-parto do período de transição está associada ao grande aumento no tamanho do concepto (tecidos uterinos, placenta, membranas fetais e o feto) e consequente demanda de nutrientes (Bell et al., 1995). Estes mesmos autores demonstraram que o aumento do requisito de energia do útero gravídico de vacas de 210^o para o 270^o dia de gestação passou de 631 para 821 Kcal/dia, já o aumento do requisito de

proteína bruta passou de 62 para 117 g/dia. Assim estes aumentos nas necessidades de energia e proteína provocam adaptações metabólicas por parte da mãe para poder atender os requerimentos do feto e de manutenção.

Os últimos dias da gestação coincidem com a formação de colostro, com o aumento da demanda da glândula mamária por glicose, aminoácidos, ácidos graxos, minerais e vitaminas. O fluxo sanguíneo mamário bem como o consumo de oxigênio e absorção de glicose e acetato aumentam consideravelmente entre o segundo dia pré-parto e o primeiro dia pós-parto (Figura 1) (Bell, 1995).

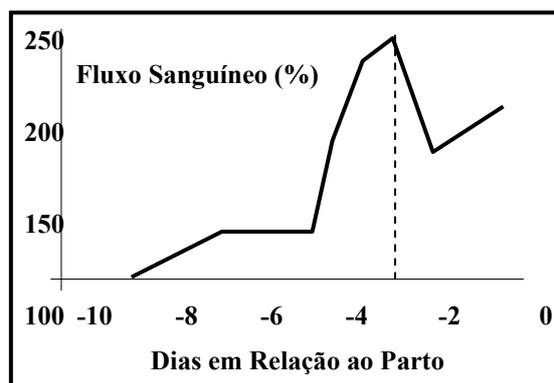


Figura 1. Alterações no fluxo sanguíneo da glândula mamária durante o período de transição (% em relação ao 10^o dia pré-parto), adaptado de Bell (1995)

O aumento da demanda energética e protéica pela mãe e seu concepto não é compensado por maior ingestão de alimentos. Segundo Grummer (1995) e Grant et al. (1995), o consumo próximo ao parto reduz de maneira drástica. O declínio na ingestão de matéria seca tem início três semanas pré-parto, sendo esta queda mais acentuada na última semana

de gestação (Bertics et al., 1992; Ingvarsten e Andresen, 2000).

A segunda parte do período de transição, fase pós-parto, tem início com a produção de colostro seguido da produção copiosa de leite (Tucker, 1985). Como já foi mencionado anteriormente, no pós-parto imediato acontece aumento do fluxo sanguíneo mamário associado à maior captação de nutrientes pela glândula mamária (Bell, 1995). Um exemplo clássico do aumento do metabolismo mamário pode ser evidenciado pela captação de glicose requerida para a síntese de lactose (Tabela 1). Segundo Bell (1995), essa captação de glicose pela glândula mamária, no primeiro dia pós-parto, é cerca de nove vezes àquela observada pelo mesmo tecido nove dias antes do parto.

Tabela 1. Estimativa da captação mamária de nutrientes durante o início da lactação (4^o dia) para uma vaca produzindo 30 kg de leite

Nutrientes	Captação mamária		
	g/dia	Mcal/dia	g de N/dia
Glicose	1.775	6,6	----
Aminoácidos	1.374	8,0	220
Acetato	1.224	11,3	----

Fonte: Adaptado de Bell (1995)

Nesta fase do período de transição a glândula mamária tem papel central no metabolismo do animal, uma vez que requer maior aporte de nutrientes, fazendo com que as exigências metabólicas desta fase sejam ainda maiores do que as observadas no final da gestação (Bell, 1995) (Figura 2).

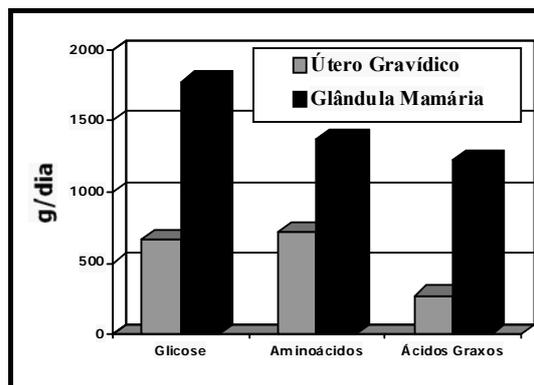


Figura 2. Comparação entre os valores estimados para captação de nutrientes pelo útero (250 dias de gestação) e pela glândula mamária (quatro dias pós-parto) em vacas da raça Holandesa, adaptado de Bell (1995)

Overton et al. (1998) relataram, em vacas da raça Holandesa de alta produção, que a demanda de glicose, durante os últimos 21 dias de gestação, varia entre 1000 a 1100 g/d e este valor aumenta para 2500 g/d aproximadamente no 21^o dias após o parto.

De maneira similar ao que se observa no pré-parto, o aumento na demanda de nutrientes necessários para suprir os requisitos de manutenção do animal não é acompanhado pelo aumento na ingestão de matéria seca (Ingvarsten e Andersen, 2000). Assim os animais não conseguem ingerir a quantidade de matéria seca que necessitam para a produção de leite, já que, o pico na produção de leite ocorre entre a quarta e a oitava semana pós-parto e, o pico na ingestão de matéria seca, entre a 10^a e 14^a semanas pós-parto, ocasionando descompasso entre o momento de maior demanda de nutrientes e o de maior ingestão de matéria seca (Santos, 2005).

2.1.1. Balanço energético negativo

Tanto no pré quanto no pós-parto se observa desequilíbrio entre as necessidades do animal e o consumo de nutrientes, fazendo com que as necessidades energéticas e protéicas sejam supridas pela mobilização de reservas corporais (Ingvarsen e Andersen al., 2000), o que leva o animal a apresentar quadro conhecido como balanço energético negativo (BEN) e que é normalmente observado durante as últimas três semanas da gestação e primeiras semanas da lactação.

O período de BEN, característico do período de transição, faz com que o animal sofra uma série de adaptações metabólicas e endócrinas as quais podem variar em intensidade dependendo do animal (expressão genética). O BEN é um processo de adaptação complexo que inclui ajuste integrado entre processos tais como gliconeogênese, glicogenólise, lipólise, metabolismo de proteínas, entre outros, com o objetivo de adaptar ao animal o mais rápido possível ao novo estado fisiológico.

Mesmo considerando o BEN como período de adaptação, este tem sido relacionado com a síndrome de baixa fertilidade observada durante as últimas décadas nas vacas leiteiras de alta produção. Segundo Butler (2008), a seleção genética e o melhor manejo dos rebanhos leiteiros têm aumentado significativamente a produção de leite nos últimos anos, porém a fertilidade vem diminuindo de maneira constante em todo o mundo. O aumento da produção de leite faz com que a intensidade do BEN seja maior, tendo então repercussões negativas sobre a

eficiência reprodutiva dos rebanhos leiteiros.

Segundo Zurek et al. (1995), um dos principais efeitos do balanço energético negativo sobre a atividade ovariana pós-parto é a supressão da liberação pulsátil de hormônio luteinizante (LH), que é fundamental para que os folículos atinjam o tamanho pré-ovulatório e ovulem. As concentrações plasmáticas de LH, assim como a frequência de picos de LH, aumentam logo após o animal ter atingido o balanço energético negativo máximo, ocorrendo, então, na maioria dos casos, a primeira ovulação pós-parto (Canfield e Butler, 1990).

Britt (1992) lançou a hipótese de que a capacidade de desenvolvimento do oócito assim como a capacidade esteroideogênica do folículo em vacas leiteiras de alta produção estariam determinadas pelo ambiente bioquímico durante um período de crescimento folicular de aproximadamente 80 dias antes de ocorrer a ovulação. Assim, folículos primários, expostos às condições adversas associadas com o período de BEN no pós-parto imediato, seriam incapazes de produzir concentrações adequadas de estrógenos e progesterona (após a ovulação). Esta situação adversa estaria influenciando a qualidade do oócito (qualidade inferior), bem como o desenvolvimento do embrião (microambiente uterino).

Segundo Britt (1992), o desenvolvimento do primeiro e segundo folículos ovulatórios durante o pós-parto começou durante a lactação anterior ou no período seco, momento em que as condições metabólicas eram desejáveis, ou seja, o animal estava em balanço energético

positivo. O contrário acontece com o terceiro a quinto folículos, nos que o desenvolvimento acontece durante o início da lactação, quando o animal está em balanço energético negativo e, como consequência, os folículos estariam sob os efeitos das condições metabólicas adversas do período pós-parto. Estes folículos irão ovular quando os animais estiverem liberados para serem inseminados artificialmente.

Estudo desenvolvido por Leroy et al. (2004), coletando amostras de fluido folicular de vacas leiteiras de alta produção no pós-parto, conseguiram demonstrar que ovócitos em fases de crescimento e maturação estão expostos diretamente as mudanças bioquímicas séricas associadas com o BEN. Estas modificações metabólicas refletirão na composição do fluido folicular e, por isso, afetarão a qualidade tanto do ovócito quanto das células da granulosa. Desta forma, as estruturas foliculares em estádios iniciais de desenvolvimento podem estar submetidas a barreiras menos eficientes de proteção das variações metabólicas sistêmicas (Leroy et al., 2004).

2.2. Perfil metabólico de vacas no período de transição

Como já foi mencionado anteriormente, durante o período de transição acontece aumento na demanda energética e protéica da mãe, promovendo alterações no metabolismo materno (Ingvarsen e Andersen, 2000). No pré-parto, a maior parte do carbono e do nitrogênio requerido pela mãe (manutenção) e pelo conceito (crescimento) é suprido pela

glicose (seja diretamente ou pela via do lactato) e pelos aminoácidos (Bell, 1995). Os lipídeos participam em menor proporção no suprimento de energia para o feto, já que o transporte transplacentário de ácidos graxos, assim como de corpos cetônicos, é limitado em ruminantes (Bell, 1995).

O balanço energético negativo, característico do pós-parto imediato, faz com que aumentem as necessidades de glicose, aminoácidos e ácidos graxos que são utilizados pela glândula mamária para produção de lactose, proteínas e gordura do leite, respectivamente (Faria, 2006).

Devido à queda na ingestão de matéria seca durante este período, as taxas de fermentação ruminal são baixas e, a produção de propionato, o maior precursor gliconeogênico em ruminantes, se encontra diminuída também (Ingvarsen e Andersen, 2000). Assim, para suprir as necessidades protéicas e energéticas do pré e pós-parto praticamente todos os tecidos do organismo sofrem adaptações metabólicas com o objetivo de aumentar a eficiência na utilização dos metabólitos para manter a gestação e sustentar a lactação (Quadro 1) (Ingvarsen e Andersen, 2000).

Segundo Reynolds et al. (2003), 50% da glicose produzida pelo fígado, durante o período de transição, é proveniente da gliconeogênese a partir do propionato, sendo a porcentagem restante da glicose produzida a partir de outros substratos endógenos, tais como o lactato, os aminoácidos e o glicerol.

Quadro 1. Mudanças metabólicas associadas ao início da lactação em ruminantes

Função Fisiológica	Mudança Metabólica	Tecido Envolvido
Síntese de Leite	↑Capacidade de síntese ↑Fluxo sanguíneo ↑Captação de nutrientes	Glândula Mamária
Metabolismo Lipídico	↑Lipólise ↓Lipogênese ↑Utilização de lipídios	Adiposo Outros
Metabolismo Carboidratos	↑Gliconeogênese ↓Utilização de glicose ↑Mobilização protéica	Fígado Outros

↑ Aumento, ↓ Decréscimo.

Fonte: Adaptado de Bauman e Currie (1980)

O lactato é substrato importante no processo de gliconeogênese e pode ser obtido diretamente da dieta e do metabolismo do propionato na parede ruminal, do catabolismo de aminoácidos ou por meio do metabolismo da glicose nos músculos e no conceito (Hough et al., 1985). Segundo Overton et al. (2004), a transformação hepática de lactato em glicose, durante o período de transição, é responsável por aproximadamente 15 a 20% do total da glicose produzida no fígado.

Os aminoácidos também são substratos importantes na gliconeogênese, contribuindo com cerca de 9% da glicose total produzida, valor que pode chegar a duplicar ou mesmo triplicar durante o período de transição (Reynolds et al., 2003).

O glicerol, composto de três carbonos liberado pelo tecido adiposo, é a única porção das reservas lipídicas que pode ser transformada em glicose no fígado, e contribui com aproximadamente 2 a 4%

da glicose em vacas no período de transição (Reynolds et al., 2003).

Com o objetivo de permitir a disponibilidade fetal e mamária de glicose, o organismo materno utiliza outros mecanismos, além do aumento na gliconeogênese hepática, tais como a diminuição da utilização de glicose pelos tecidos periféricos, em especial o tecido muscular (Bell, 1995). Todas estas ferramentas são utilizadas pelo organismo na tentativa de manter a concentração plasmática de glicose constante durante o período de transição.

Segundo Bell. (1995), as alterações no metabolismo lipídico durante o período de transição têm como objetivo reservar a glicose para a sua posterior utilização pelo conceito. Durante a fase pré-parto do período de transição as concentrações de glicose se mantêm estáveis apresentando pequena elevação poucos dias antes do parto (Figura 3). No momento do parto ocorre aumento drástico nas concentrações de

glicose, que diminuem imediatamente após o parto (Vasquez – Añon et al., 1994).

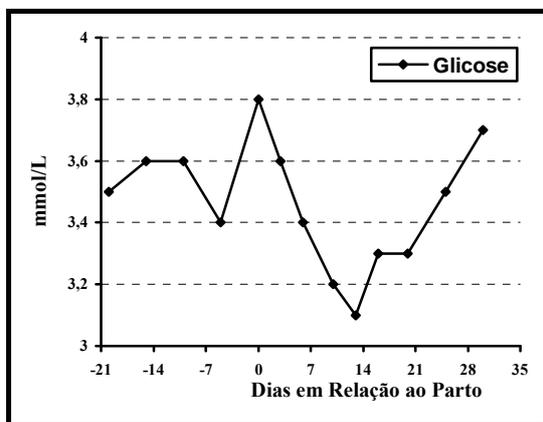


Figura 3. Concentrações plasmáticas de glicose (mmol/L) em vacas leiteiras durante o período de transição, adaptado de Vasquez - Añon et al. (1994)

O tecido adiposo serve como reserva energética durante períodos em que as necessidades de energia excedem a quantidade de energia ingerida pelo animal, como no caso do balanço energético negativo. Desta forma, o tecido adiposo é mobilizado ocorrendo alta taxa de lipólise, consideravelmente superior à lipogênese, o que resulta em maior disponibilidade sérica de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (Bell, 1995). Durante o período de transição a mobilização das reservas corporais faz com que as concentrações sanguíneas de AGNE aumentem, à medida que se aproxima o parto. As concentrações de AGNE podem dobrar entre o dia -17 e -2, relativos ao parto. (Figura 4) (Grummer, 1993).

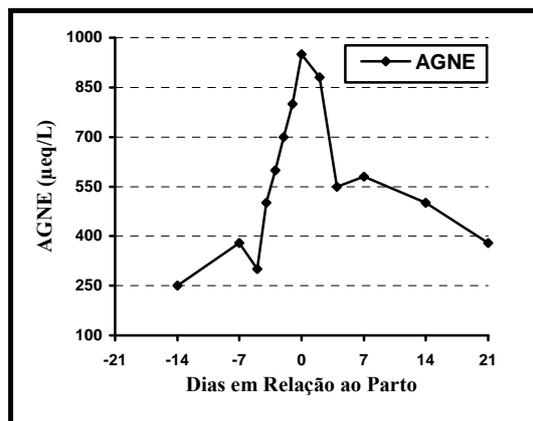


Figura 4. Concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) em vacas leiteiras durante o período de transição, adaptado de Grummer (1993)

As altas concentrações de AGNE podem ser utilizadas pela glândula mamária, fígado e outros órgãos, para suprir as deficiências nutricionais originadas pela menor ingestão de matéria seca (Grummer, 1995). No fígado, os AGNE são ativados pela ação da enzima acil-CoA sintetase formando o acil-CoA graxo que, por sua vez, pode seguir três rotas metabólicas: i) pode ser completamente oxidado a dióxido de carbono, água e energia; ii) parcialmente oxidado a corpos cetônicos (a oxidação total ou parcial se inicia quando o acil-CoA graxo é transportado para o interior da mitocôndria). Este mecanismo precisa de sistema transportador especializado composto pela carnitina acil transferase I e II); e iii) reesterificado com o glicerol formando triglicerídeos os quais, por sua vez, podem ser exportados para o resto do organismo na forma de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (Drackley, 1999). Quando a taxa de reesterificação dos ácidos graxos hepáticos excede a taxa de metabolização de triglicerídeos, via

hidrólise, oxidação ou secreção como lipoproteínas, há o acúmulo hepático de lipídeos (Overton, 2003).

O fígado dos ruminantes possui capacidade limitada para exportar triglicérides, de forma que sua maior mobilização, em relação à baixa exportação pelo fígado, leva ao acúmulo hepático de gordura, predispondo o animal a doenças metabólicas (esteatose hepática) (Bell, 1995). A esteatose hepática ou fígado gorduroso está associada com maior incidência de doenças infecciosas (mastites e metrites), digestivas (deslocamento de abomaso), desordens metabólicas (cetose) e problemas reprodutivos (retenção de placenta) (Bobe et al., 1994).

Além da maior incidência de doenças, o acúmulo hepático de lipídeos está associado com a redução da eficiência metabólica do fígado, o que compromete o desempenho do animal (Drackley, 1999). Assim, dentre os principais efeitos causados pelo acúmulo de triglicérides no fígado pode se mencionar a diminuição na capacidade de síntese da uréia (Strang et al., 1998), o que faz com que as concentrações de amônia aumentem, diminuindo a habilidade dos hepatócitos em promover o processo de gliconeogênese a partir do propionato (Overton et al., 1999).

2.3. Perfil hormonal de vacas no período de transição

O conhecimento existente sobre o período de transição é mínimo quando comparado com outros estados fisiológicos do animal, tal como a lactação. Diferentes fatores contribuem

para este fato, por exemplo, um dos pontos críticos do estudo das respostas fisiológicas, durante este período, é que os eventos ou mudanças fisiológicas acontecem de maneira muito rápida, sendo que a maioria das adaptações metabólicas ocorrem em um período de quatro semanas, sendo duas semanas antes e duas semanas após o parto (Drackley, 1999). Assim, as avaliações metabólicas e endócrinas durante o período de transição são altamente variáveis, refletindo as diferenças entre organismos no que se refere à adaptação a lactação.

Como já foi mencionado anteriormente, no final da gestação acontecem mudanças endócrinas que lideram as adaptações metabólicas necessárias que preparam o animal para as grandes demandas de produção de leite no pós-parto. No quadro 2 podem ser visualizadas as mudanças nas concentrações plasmáticas de alguns hormônios homeorréticos e homeostáticos, durante o período de transição.

Quadro 2. Mudanças nas concentrações plasmáticas de alguns hormônios homeorréticos e homeostáticos durante o período de transição

Hormônios Homeorréticos	Final Gestação	Início Lactação
Progesterona	↓	↓
Lactogênio placentário	↑	↓
Estrógeno	↑	↓
Prolactina	↓	↑
Somatotropina	↓	↑
Leptina	?	↑
Hormônios Homeostáticos		
Insulina	↑	↓
Glucagon	-	-
Somatostatina	?	?

↑ Aumento, ↓ Decréscimo, ? Indeterminado em ruminantes, - mudanças não significativas.

Fonte: Adaptado de Ingvarsen e Andersen (2000).

Dentre as mudanças endócrinas podem-se ressaltar aquelas relacionadas com os processos de gliconeogênese, cetogênese e mobilização de ácidos graxos. O objetivo de todas estas adaptações metabólicas e endócrinas é o de manter a concentração de glicose constante, assim como permitir o aporte extra de glicose em momentos de deficiência energética, o que é relevante nos ruminantes já que o cérebro depende do aporte energético da glicose para o seu funcionamento (Brockman et al., 1986).

O papel da insulina no controle do metabolismo é de natureza anabólica. Este hormônio estimula a utilização de glicose por vários tecidos periféricos, inibe a gliconeogênese assim como a liberação de glicose pelo fígado, estimula a incorporação de aminoácidos nas proteínas, inibe a proteólise, estimula a lipogênese e inibe a lipólise (Quadro 3) (Bines et al., 1978). Da mesma forma, a utilização de acetato pelos tecidos periféricos é estimulada pela insulina. Isto permite sugerir que a insulina tem efeitos sobre o metabolismo de carboidratos, lipídeos e aminoácidos (Murray et al., 1994).

Quadro 3. Locais de ação e efeitos da insulina

Tecido Envolvido	Ação
Músculo	↑Captação da glicose ↑Síntese de glicogênio ↑Degradação do glicogênio ↑Glicólise
Adiposo	↑Captação da glicose ↑Síntese de triglicérides
Fígado	↑Captação da glicose ↑Síntese de glicogênio ↓Degradação do glicogênio ↑Glicólise ↑Síntese de ácidos graxos

↑ Aumento, ↓ Decréscimo

Fonte: Adaptado de Ingvarlsen e Andersen (2000).

Quando as concentrações de insulina se encontram altas, os ácidos graxos das lipoproteínas são direcionados para o tecido adiposo. No caso de baixas concentrações do hormônio, os triglicérides do tecido adiposo são direcionados para os músculos, glândula mamária e outros tecidos (Herdt, 1998).

As concentrações séricas de insulina variam durante a gestação e a lactação. Assim, as concentrações do hormônio se encontram elevadas no começo da gestação (150µU/mL) e diminuem gradativamente no decorrer da gestação atingindo sua concentração mais baixa (30µU/mL) nos dias que antecedem o parto, e permanecendo assim durante as primeiras semanas de lactação (Vázquez-Añón, 1996) (Figura 5).

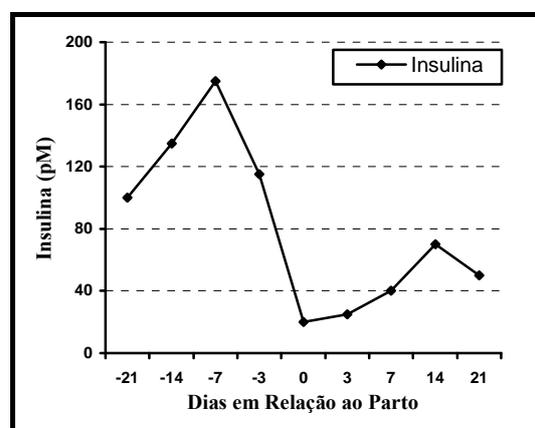


Figura 5. Concentrações séricas de insulina em vacas leiteiras durante o período de transição, adaptado de Vázquez-Añón (1996)

É importante ressaltar que tanto a glicose quanto o propionato estimulam a liberação de insulina, o que explicaria a queda na concentração sérica de insulina durante o período de transição, já que as

concentrações de propionato e glicose estão baixas devido à grande demanda pelo organismo, associado com a redução na ingestão de matéria seca. Também, a menor concentração de insulina, observada antes do parto, poderia estar relacionada com a maior mobilização de reservas corporais, assim como com a diminuição na lipogênese (Herd, 1998).

Um fenômeno interessante que acontece em vacas leiteiras no período de transição é a resistência à insulina, que pode ser definida como a redução da sensibilidade dos diversos tecidos corporais à insulina (Peterson et al., 1994). Segundo os mesmos autores, esta menor responsividade pode provocar alterações na utilização de glicose em vários tecidos corporais, bem como a menor ação da insulina sobre a lipólise e a mobilização dos ácidos graxos no tecido adiposo. A resistência a insulina também pode induzir a menor utilização da glicose e do acetato, fazendo com que as taxas de lipogênese sejam mais baixas (Madsen, 1983).

Além dos efeitos observados no tecido adiposo, a resistência a insulina também está presente no tecido muscular no início da lactação o que leva a menor captação e utilização de aminoácidos (Faulkner et al., 1990).

Todas as alterações causadas pela resistência à insulina promovem maior mobilização de AGNE e aminoácidos assim como menor utilização de glicose, fazendo com que estes sejam utilizados efetivamente pela glândula mamária.

O hormônio de crescimento (GH) ou somatotropina é um hormônio

hipofisário que afeta de maneira direta ou indireta diversos processos durante o crescimento, reprodução e lactação (Lucy et al., 2001). Ao contrário da insulina, as concentrações sanguíneas de GH aumentam nos dias que antecedem o parto, permanecendo elevadas durante o período pós-parto (Bell, 1995). Estas altas concentrações estão relacionadas com a coordenação de adaptações metabólicas durante o período de transição (Lucy et al., 2001) (Figura 6). O GH atua em diferentes tecidos de maneira coordenada, mas atua de forma marcante na partição de nutrientes entre o tecido adiposo e o metabolismo lipídico (Eherton et al., 1998).

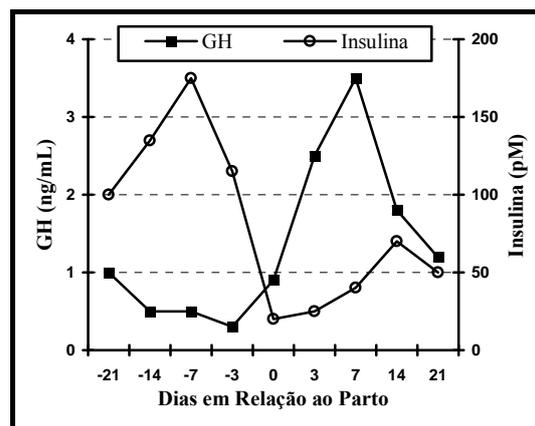


Figura 6. Concentrações séricas de insulina e de hormônio de crescimento (GH) em vacas leiteiras durante o período de transição, adaptado de Ingvarsen e Andersen (2000)

No tecido adiposo, o GH aumenta a taxa de lipólise e, conseqüentemente, as concentrações de AGNE no sangue, os quais podem ser oxidados no fígado ou incorporados diretamente na gordura do leite (Lucy et al., 2001). Da mesma forma, o GH antagoniza a lipogênese e

bloqueia a captação de glicose insulina-dependente (Lucy, 2008a).

No fígado, as altas concentrações de GH no pós-parto estimulam o aumento na gliconeogênese, atendendo assim os requerimentos para a síntese de lactose na glândula mamária (Bell, 1995). O aumento na gliconeogênese implica em efeito direto do GH na via gliconeogênica, assim como efeito indireto deste hormônio por meio do antagonismo na ação da insulina (Etherton et al., 1998).

O papel importante e significativo do GH na partição de nutrientes se comprova com o aumento na produção de leite, de 10 a 15%, em vacas leiteiras que recebem tratamento com somatotropina recombinante bovina (bSTr) (Lucy et al., 2001). Assim, a maior produção observada nas vacas que recebem bSTr é devido aos seus efeitos sobre diferentes mecanismos fisiológicos, que são consistentes com os observados com GH (antagonista da ação da insulina, estimula gliconeogênese e bloqueia lipogênese) (Lucy, 2008a).

Os mecanismos de ação do GH são mediados pelo seu receptor (GHR), que se encontra em maiores concentrações no fígado, seguido do tecido adiposo (Lucy et al., 1998). A resposta hepática mais significativa ao GH é o incremento na síntese e secreção de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), que atua como hormônio e controla a secreção de GH através de mecanismo de retroalimentação negativa (Lucy, 2008a). Assim, os mecanismos nutricionais que controlam a secreção de GH podem se manifestar através desta

retroalimentação negativa. Um exemplo desta interação é a restrição nutricional de energia e proteína, que bloqueia a ação do GHR e diminui a síntese e secreção de IGF-I no fígado e, por meio de retroalimentação negativa, aumenta a concentração de GH durante o período de restrição alimentar (Lucy, 2008a).

Em bovinos existem três formas de mRNA para GHR, sendo 1A, 1B e 1C. O mRNA do GHR 1A é diferente do mRNA do GHR 1B e 1C, já que é regulado por grande variedade de sinais biológicos (Rhoads et al., 2004). As formas 1B e 1C também são encontradas em muitos tecidos, incluindo o fígado, mas estas formas alternativas de mRNA GHR sofrem regulação biológica de menor intensidade, razão pela qual são expressas em menores quantidades (Lucy et al., 2001).

Nas vacas leiteiras, a expressão hepática de GHR 1A muda de maneira drástica durante o parto (Lucy, 2008a). Assim, observa-se que as concentrações de mRNA GHR 1A diminuem dois dias antes do parto, permanecem baixas durante a primeira semana pós-parto, e se elevam lentamente a partir da segunda semana após o parto. A diminuição de GHR 1A no pós-parto está associada com o aumento nas concentrações de GH e AGNE. Resumindo, o GH aumenta a taxa de gliconeogênese hepática e diminui a lipogênese no tecido adiposo, disponibilizando, assim, glicose e AGNE para o conceito e glândula mamária.

O IGF-I é produzido principalmente no fígado embora sua síntese tenha sido reportada em órgãos vitais no processo reprodutivo, tais como o hipotálamo,

ovários, tuba uterina e útero (Velazquez et al., 2008). O GH é o fator endócrino que estimula a produção hepática de IGF-I, o que, uma vez liberado na circulação, exerce funções endócrinas em diversos tecidos (Zulu et al., 2002).

Durante o período de BEN as concentrações de IGF-I se encontram baixas devido, possivelmente, ao BEN que controla, de maneira parcial, a síntese e secreção hepática de IGF-I, assim como as mudanças dinâmicas observadas no metabolismo hepático no pós-parto imediato (Zulu et al., 2002).

As concentrações de IGF-I estão correlacionadas com as concentrações séricas de glicose, insulina, com o peso e escore de condição corporal, e são inversamente proporcionais com as concentrações de AGNE e corpos cetônicos (Akers, 2006). Segundo Zulu et al. (2002), diversos estudos relacionam as concentrações de IGF-I com o balanço energético do animal. Assim vacas em balanço energético positivo apresentam valores de IGF-I mais altos quando comparadas com vacas em BEN.

Em animais sub-alimentados ou no caso de BEN, observa-se que as concentrações de GH estão elevadas e as de IGF-I baixas, mostrando que estes animais podem estar em estado de resistência a insulina. Desta maneira, a redução na capacidade de ligação hepática do GH, assim como o número de receptores de GH, podem ser mecanismos que atuam diretamente na diminuição nas concentrações de IGF-I em animais submetidos à restrição alimentar (Zulu et al., 2002).

O IGF-I tem papel central no eixo reprodutivo. Dentre as múltiplas funções que têm sido atribuídas ao IGF-I pode-se mencionar: estímulo da secreção de GnRH no hipotálamo, estímulo da secreção de gonadotropinas na adenohipófise, no ovário o hormônio tem sido relacionado com a proliferação e diferenciação das células da granulosa, promove a esteroideogênese nas células da teca, estimula o sistema aromatase, induz a síntese de receptor de LH, estimula a síntese de inibina, aumenta a sensibilidade das células foliculares ao FSH e LH, participa de maneira ativa na formação e função do corpo lúteo (Zulu et al., 2002).

Durante o período de transição as concentrações de IGF-I começam a diminuir nos últimos dias da gestação, atinge ponto mínimo nas primeiras semanas após o parto, e se elevam no final do período de transição. Resumindo, o IGF-I atua como sinalizador entre o status nutricional e o eixo reprodutivo, permitindo a máxima expressão do potencial reprodutivo quando as condições nutricionais são favoráveis para este processo.

2.4. Alternativas para diminuir o balanço energético negativo durante o período de transição

2.4.1. Gordura suplementar

Os lipídeos utilizados em rações de animais aumentam a capacidade de absorção de vitaminas lipossolúveis, fornecem ácidos graxos essenciais importantes para as membranas de tecidos, e atuam como precursores da

regulação do metabolismo (Palmquist e Soares, 2006).

O teor de ácidos graxos encontrados na maioria das rações animais é relativamente baixo, variando de 18% a 40% em sementes de oleaginosas que podem ser usadas como suplementos (Tabela 2).

O tipo de ácido graxo também varia. Assim, a maioria dos lipídeos dos vegetais é altamente insaturada. Em cereais e na maioria das sementes oleaginosas há predominância do ácido linoléico (18:2 n-6), enquanto nas forragens o ácido graxo predominante é

o α - linolênico (18:3 n-3) (Staples et al., 1998).

A matéria seca ingerida pela maioria dos animais domésticos contém cerca de 3 a 4% de ácidos graxos, predominantemente insaturados, a menos que sejam utilizados suplementos de sementes de oleaginosas ou outros suplementos lipídicos (Palmquist e Soares, 2006). A composição de ácidos graxos em suplementos comerciais varia de acordo com a fonte e o tipo de processamento. Alguns exemplos de gordura comerciais encontram-se na tabela 3.

Tabela 2. Composição de ácidos graxos de alguns alimentos

	Conteúdo de ácidos graxos (g por 100g AG)								
	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	22:1
Cereais									
Cevada		27,6	0,9	1,5	20,5	43,3	4,3	---	---
Milho	0,1	16,3		2,6	30,9	47,8	2,3	---	---
Sorgo		20,0	5,2	1,0	31,6	40,2	2,0	---	---
Aveia	0,1	22,1	1,0	1,3	38,1	34,9	2,1	---	---
Trigo	0,1	20,0	0,7	1,3	17,5	55,8	4,5	---	---
Subprodutos									
Glúten de milho		17,2	0,9	0,8	26,7	53,0	1,4	---	---
Forragens									
Azevém	0,2	11,9	1,7	1,0	2,2	14,6	68,2	---	---
Gramínea temperada	1,1	15,9	2,5	2,0	3,4	13,2	61,3	0,2	---
Sementes oleaginosas									
Caroço de algodão	0,8	25,3		2,8	17,1	53,2	0,1	0,1	---
Colza	4,3		0,3	1,7	59,1	22,8	8,2	0,5	0,9
Soja	0,2	10,7	0,3	3,9	22,8	50,8	6,8	0,2	---
Girassol	0,1	5,5			3,6	21,7	68,5	0,1	0,1

Fonte: Palmquist e Soares (2006).

Tabela 3. Composição de ácidos graxos de alguns produtos comerciais

Fonte Lipídica	Ácidos Graxos (%)						
	C14:0 Mirístico	C16:0 Palmitico	C16:1 Palmitico -oléico	C18:0 Estearico	C18:1 Oléico	C18:2 Linoléico	C18:3 Linolênico
Sebo	3	25	3	18	43	3,8	<1
Soja Grão	<1	12	<1	4	24	53	7
Soja Grão tostada	<1	12	<1	4	24	52	8
Óleo de semente de algodão	1	23	1	3	18	54	1
Óleo de girassol	<1	7	<1	5	19	68	1
Óleo de peixe ¹	7	16	8	3	12	1	2
Óleo de soja	<1	11/12	<1	4/5	23/24	52/54	4/8
Óleo de palma	1	48	<1	4	36	9	<1
Megalac-EnerG-II® ²	1	50	<1	4	36	8	<1
Megalac-R® ²	1	36	<1	4	26	29	3
Megalac-E® ³	*	16	*	5	32,3	40/42	3

Fonte: Adaptado de Mohamed et al., 1998; Mandebvu et al., 2003; Staples et al., 2007.

*Informação não disponível

¹Contém também 14% de C20:5 e 9% de C22:6

²Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados comercializados nos Estados Unidos por (ARM & HAMMER. QGN)

³Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados comercializados no Brasil por (ARM & HAMMER. QGN)

Os animais têm exigências específicas de ácidos graxos para sua sobrevivência e desempenho adequado do seu metabolismo. Alguns desses ácidos incluem o 18:2 n-6 e 18:3 n-3 (ácidos graxos essenciais). Os animais possuem o complexo enzimático desaturase que introduz ligações duplas *cis* em posições Δ -5, Δ -6 e Δ -9 na cadeia acil. Este complexo enzimático não é capaz de desaturar ligações na cadeia acil distais da posição Δ -9-10. Portanto, os ácidos graxos necessários para processos metabólicos ou estruturais que possuem ligações duplas distais da posição Δ -9 devem ser incluídos na ração.

Os ácidos graxos araquidônico (20:4 n-6) e eicosapentaenóico (EPA, 20:5 n-3) são sintetizados a partir do ácido linoléico (18:2 n-6) e ácido linolênico (18:3 n-3), respectivamente, por meio de desaturação, alongamento da cadeia e nova desaturação (Figura 7).

Os ácidos araquidônico e EPA são precursores dos compostos chamados eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanas e leucotrienos) os quais têm funções fisiológicas importantes (Mattos et al., 2000).

O metabolismo ruminal dos lipídeos está dividido em duas fases: o metabolismo dos lipídeos dos alimentos, e a síntese “*de novo*” a partir de outros lipídeos pelos microorganismos ruminais (Van Soest, 1994). Os lipídeos das dietas de ruminantes sofrem duas importantes transformações durante a fermentação ruminal. Na primeira, ocorre a reação de hidrólise das ligações ésteres dos triglicerídeos, liberando o glicerol e três moléculas de ácidos graxos. Esta reação é catalisada pelas lipases das bactérias ruminais. A segunda reação é a biohidrogenação dos ácidos graxos oléico, linoléico e linolênico a ácidos graxos saturados no rúmen. A Figura 8 ilustra estes processos.

A biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos é realizada por várias bactérias, que podem ser divididas em dois grupos: A e B. A principal bactéria do grupo A é o *Butyrivibrio fibrisolvens*, responsável pela isomerização e a biohidrogenação do ácido

linoléico e do α -linolênico a *Trans*-11 (ácido vaccênico, 18:1). No grupo B, a principal bactéria é a *Fusocillus sp.*, responsável pela isomerização e hidrogenação do ácido oléico e do *Trans*-11 C_{18:1} a ácido esteárico (Harfoot e Hazlewood, 1997).

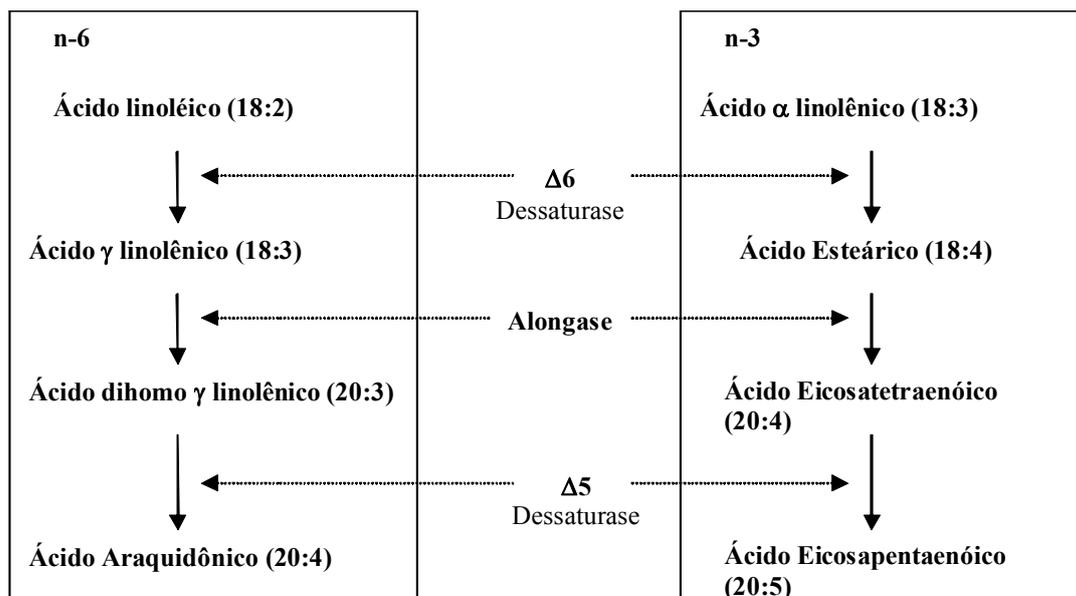


Figura 7. Desaturação e alongamento dos ácidos graxos das famílias n-3 e n-6, Adaptado de Mattos et al. (2000)

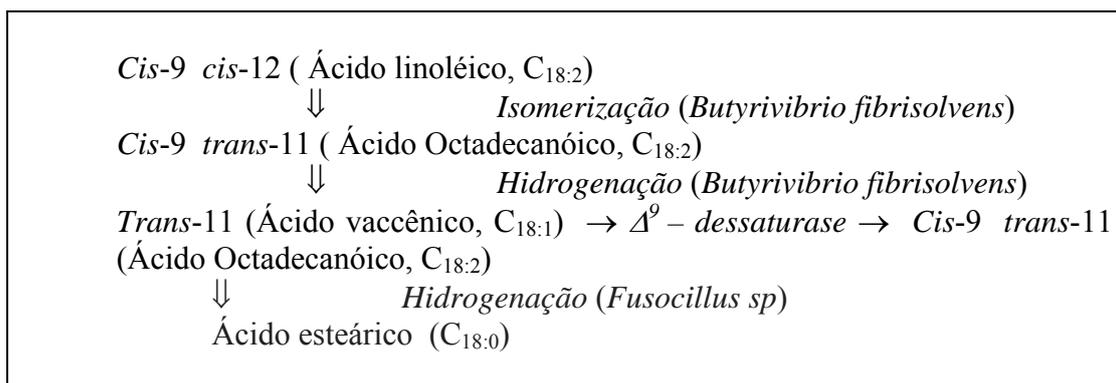


Figura 8. Biohidrogenação do ácido linoléico pelas bactérias ruminais pertencentes aos grupos A e B, Adaptado de Harfoot e Hazlewood (1997)

2.4.1.1. Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados

Dentre os suplementos de gordura parcialmente resistentes ao processo de biohidrogenação, pode-se mencionar os sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (SCAGP) que aumentam a quantidade de ácidos graxos insaturados chegando ao duodeno, a fim de serem incorporados ao tecido adiposo e leite (Mattos et al., 2000), reduzindo assim, o grau de biohidrogenação no rúmen. Segundo Staples et al. (1998), a biohidrogenação do ácido linoléico (C18:2) pode ser reduzida de aproximadamente 75 para 25% com a utilização de sais de cálcio. Portanto, a administração de sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados pode ser uma estratégia para aumentar o fluxo de ácidos graxos essenciais para o abomaso, disponibilizando posterior absorção intestinal.

Sabendo que os animais têm exigências específicas de ácidos graxos essenciais para a formação de componentes das membranas celulares e precursores de moléculas regulatórias, tais necessidades podem ser supridas quando os ácidos graxos essenciais participam com aproximadamente 1% da matéria seca da ração (2% da energia metabolizável) (Palmquist e Soares, 2006). Quando a gordura representa mais de 10% da energia metabolizável, o consumo de matéria seca tende a diminuir, provavelmente devido aos limites metabólicos de utilização de gordura, tanto para oxidação como para armazenamento nos tecidos. Algumas exceções importantes, relativas a essa observação, incluem as grandes quantidades de gordura transferidas

diretamente a produtos tais como o leite. Quantidades maiores de lipídeos podem ser usadas em rações quando a ingestão é baixa, por exemplo, em ambientes com elevadas temperaturas, ou quando o consumo de energia é alto, como em momentos de exercício ou em climas muito frios (Palmquist e Soares, 2006).

A suplementação com gordura em dietas de ruminantes tem como objetivos aumentar a concentração energética e melhorar o desempenho do animal (crescimento, produção e reprodução). Durante o início da lactação, as vacas entram em período de deficiência de nutrientes e, originalmente, se pensava que a introdução de gordura suplementar nas dietas poderia melhorar o consumo de energia e o balanço energético, o que deveria melhorar a reprodução (Santos et al., 2008). Devido ao fato de que vacas no início da lactação mobilizam grandes quantidades de ácidos graxos de cadeia longa, estocados no tecido adiposo, as concentrações sanguíneas de ácidos graxos estão elevadas durante este período (Drackley, 1999). Isso provoca desequilíbrio no aporte de precursores para o animal, o que compromete o apetite e a ingestão de energia de maneira geral (Drackley, 1999). Quando a gordura é suplementada na fase inicial da lactação, as vacas consomem menos alimentos e/ou aumentam a produção. Desta forma, a gordura suplementar no pós-parto raramente altera o status energético, mesmo que a ração consumida seja energeticamente mais densa (Santos et al., 2008). Staples et al. (1998) indicaram que a suplementação com gordura não alterou o status energético do animal e sugeriram que as respostas reprodutivas, observadas com o uso de gordura suplementar, foram o

resultado do fornecimento de ácidos graxos de cadeia longa que alteraram a disponibilidade de precursores para o animal.

Como já foi mencionado, os lipídeos são moléculas importantes que servem como fonte de energia e são componentes fundamentais da estrutura física e funcional de células. As mudanças bioquímicas como, por exemplo, o comprimento de cadeia, o grau de instauração, e a posição da ligação dupla na cadeia acil do ácido graxo tem efeitos significativos no seu funcionamento e nos processos reprodutivos (Staples et al., 1998; Mattos et al., 2000; Santos et al., 2008). Os mecanismos não têm sido esclarecidos mas, provavelmente, as respostas positivas com a suplementação de gordura incluem: melhoramento da densidade energética da dieta, alterações no desenvolvimento folicular, aumento nas concentrações de progesterona, supressão de sinais luteolíticos no momento de reconhecimento materno da gestação e melhora da qualidade do ovócito e do embrião (Santos et al., 2008).

Um dos mecanismos pelos quais a gordura suplementar pode melhorar a fertilidade em bovinos é influenciando o crescimento folicular e ovulação (Lucy et al., 1993). Lucy et al. (1991) substituíram, no começo da lactação, milho por SCAGP e observaram que esse fornecimento aumentou o número de folículos de tamanho médio (6-9mm) nos primeiros 25 dias após o parto. Somado a isso, o diâmetro do maior folículo em vacas alimentadas com SCAGP foi de 18,2 mm vs 12,4 mm nas vacas controle. Quando este mesmo estudo foi repetido com dietas

isocalóricas, os efeitos observados foram similares (Lucy et al., 1993). Staples e Thatcher (2005) fizeram revisão dos efeitos da utilização de gordura sobre o diâmetro folicular e relataram que, em média, o diâmetro do folículo dominante foi 3,2 mm maior quando comparado com o diâmetro de animais controle, o que representa incremento de 23% no diâmetro folicular em vacas suplementadas com gordura. Vários estudos reportam diferenças no crescimento folicular quando são fornecidos ácidos graxos mono e poliinsaturados, sugerindo que existem efeitos diferenciais do perfil de ácidos graxos no desenvolvimento folicular (Bilby et al., 2006). O aumento no número e tamanho dos folículos ovulatórios com a utilização de gordura suplementar pode reduzir o intervalo parto – primeira ovulação, como tem sido observado em vacas de corte (Lammoglia et al., 1996; DeFries et al., 1998).

O melhor desenvolvimento folicular em vacas suplementadas com gordura tem sido reportado por vários autores (Hightshoe et al., 1991; Lucy et al., 1991; Williams., 1996; Lammoglia et al., 1997; De Fries et al., 1998 ; Staples et al., 1998). Embora os mecanismos envolvidos nesta resposta não estejam bem definidos, pode-se inferir que a gordura suplementar favorece o desenvolvimento folicular via metabólitos e hormônios que atuam no sistema nervoso central, influenciando a secreção de GnRH (Lammoglia et al., 1997). Outro mecanismo pelo qual a gordura dietética poderia afetar o desenvolvimento folicular seria via ação de metabólitos e hormônios diretamente no ovário.

Hipoteticamente, os ácidos linoléico e linolênico têm sido relacionados com o aumento na produção de propionato, o qual poderia ser devido a hidrólise de gorduras poliinsaturadas a ácidos graxos de cadeia longa, resultando em efeitos insulínogênicos (Williams, 1996). Devido a isso, as concentrações de insulina também estariam aumentadas em animais recebendo gordura suplementar (Grummer e Carroll, 1991). Thomas e Williams (1996) observaram que a suplementação de vacas leiteiras com óleo de soja aumentou a concentração plasmática de insulina e intrafolicular de IGF-I, o que esteve associado a melhor padrão de crescimento folicular. A insulina e o IGF-I estimulam a proliferação de células da granulosa in vitro (Adashi et al., 1985; Lammoglia et al., 1997).

A suplementação de vacas secas com diferentes fontes de lipídeos saturados (sebo), insaturados (óleo de soja) ou poliinsaturados (óleo de peixe) aumentou, de maneira significativa, as concentrações plasmáticas de triglicérides totais, colesterol e lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Thomas et al., 1997). O aumento nas concentrações de colesterol se deve à maior absorção intestinal de alguns ácidos graxos contidos nos quilomicrons e lipoproteínas de baixa densidade (LDL), sendo a maior parte do colesterol bovino (90-95%) encontrado nas HDL (Staples et al., 1998).

O colesterol é precursor de progesterona nas células luteais. Por sua vez, a progesterona prepara o útero para a implantação do embrião e tem papel central na manutenção da gestação. O aumento nas concentrações de

progesterona tem sido associado com melhores taxas de concepção em ruminantes em lactação (Staples et al., 1998). Assim, Staples et al. (1998) hipotetizaram que o aumento nas concentrações de colesterol com o uso de gordura suplementar, induz o aumento na síntese de progesterona, embora, segundo Hawkins et al. (1995), o incremento nas concentrações de progesterona estaria associado com a diminuição no “clearance” e não com o aumento na síntese do hormônio.

Da mesma forma, a secreção de LH é parcialmente regulada pelo estatus energético do animal. A energia proveniente da gordura suplementar aumenta a secreção de LH em animais deficientes em energia (Funston, 2004). Mecanismos diferentes ao incremento energético não tem sido esclarecidos quanto ao aumento nas concentrações de LH, em animais suplementados com gordura. Staples et al. (1998) sugeriram que o aumento na liberação de LH poderia estar relacionado com a menor utilização da glicose pela glândula mamária, aportando maior quantidade de glicose para sinalizar ao eixo hipotálamo - pituitária para secretar mais LH. Segundo Funston (2004), a gordura suplementar pode aumentar a produção de glicose através do aumento na produção de propionato, e este incremento nas concentrações de glicose pode ter efeito positivo na liberação de LH.

As prostaglandinas fazem parte de um grupo de compostos derivados do grupo dos eicosanóides. As prostaglandinas e tromboxanos, outro componente do grupo eicosanóide, são produtos da via da prostaglandina hidrólise sintetase

(PGHS) e são conhecidos como prostanóides (Mattos et al., 2000). Os ácidos graxos dihomo - γ - linolênico, araquidônico e EPA são precursores para a síntese de prostanóides das séries 1, 2 e 3, respectivamente. O número das séries corresponde ao número de ligações duplas no prostanóide, assim, a $\text{PGF}_2\alpha$ contém duas ligações duplas. A $\text{PGF}_2\alpha$ é importante na regulação de vários processos reprodutivos tais como: parto, ovulação, regressão de corpo lúteo e involução uterina.

Na síntese de prostaglandinas, o ácido araquidônico pode ser de origem dietética ou da síntese de novo a partir do ácido linoléico. A conversão do ácido linoléico a araquidônico envolve dois passos de dessaturação nas posições 5 e 6 e uma reação de alongamento catalisada pela enzima alongase (Figura 2). A formação de eicosanóides da série 2 começa com a liberação de ácido araquidônico dos fosfolípidos pela ação da fosfolipase A_2 (FLA_2) (Mattos et al., 2000). O ácido araquidônico liberado pode ser processado pelo complexo enzimático PGHS para produzir prostaglandinas e tromboxanos, pode ser processado pelas lipooxigenases para produzir leucotrienos, ou pela citocromo P450 epooxigenase para produzir ácidos epoxieicosatrienoicos (EET) (Mattos et al., 2000). O complexo PGHS contém atividade ciclooxigenase e peroxidase e converte o ácido araquidônico em PGH_2 que é processada por diferentes prostaglandinas sintase para gerar PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_2\alpha$, TXA_2 e prostaciclina (PGI_2) (Mattos et al., 2000).

De maneira geral, quando os animais são suplementados com gordura se observa

incremento nas taxas de prenhez, possivelmente mediadas pela diminuição na secreção de $\text{PGF}_2\alpha$ uterino, bem como pela redução na sensibilidade do corpo lúteo à $\text{PGF}_2\alpha$. A supressão da secreção de $\text{PGF}_2\alpha$ e manutenção do corpo lúteo são eventos necessários para o estabelecimento da gestação, e falhas nestes processos são responsáveis por até 40% das perdas embrionárias (Santos et al., 2008). Assim, a redução da secreção de $\text{PGF}_2\alpha$, através de suplementação com ácidos graxos poliinsaturados, pode melhorar a fertilidade por reduzir as perdas embrionárias ocasionadas por falhas na supressão da secreção de $\text{PGF}_2\alpha$, durante o começo da gestação (Mattos et al., 2000).

A saúde uterina é fator determinante na fertilidade de vacas leiteiras. Durante o parto, os eicosanóides produzidos têm papel importante na regulação e controle do processo do parto, expulsão da placenta e de conteúdos uterinos através das contrações miométriais. A $\text{PGF}_2\alpha$ é importante na regulação da duração do corpo lúteo. Este eicosanóide pode influenciar a retenção de membranas fetais e saúde uterina. A síntese uterina de $\text{PGF}_2\alpha$ é regulada, em parte, pela disponibilidade de precursores, que, neste caso, seria o ácido araquidônico. Então, pode-se inferir que qualquer incremento na quantidade de ácido araquidônico no tecido endometrial pode aumentar a secreção de $\text{PGF}_2\alpha$ uterina, o que influenciaria de maneira positiva a saúde uterina pós-parto (Santos et al., 2008).

Cullens et al. (2004) avaliaram o efeito da suplementação de gordura no pré e pós-parto de vacas leiteiras. Quando os

animais foram suplementados no pré-parto com sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados ricos em n-6, a incidência de retenção de placenta, metrite e mastite foi reduzida quando comparada com vacas que não receberam suplementação (8,3% vs 42,9%). Estudo similar realizado por Juchem (2007), que ao suplementarem vacas no pré-parto com sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados ricos em n-6, não observaram diferenças significativas na saúde uterina e na incidência de doenças no pós-parto. Os resultados contraditórios sugerem que mesmo observando melhora na resposta imune dos animais suplementados com fontes de gordura ricas em ácidos graxos n-6, o impacto destes ácidos graxos na saúde uterina não está esclarecido (Santos et al., 2008).

A utilização de gordura suplementar em vacas leiteiras pode reduzir o número de inseminações por concepção, embora os resultados dos diferentes estudos não sejam consistentes (Santos et al., 2008). Ferguson et al. (1990) observaram que a suplementação de vacas em lactação com 0,5 kg/dia de gordura, apresentou a maior proporção de animais gestantes no final do estudo, quando comparado com o grupo controle (93% vs 86,2%). Em vacas a pasto, a suplementação com 0,35 kg de ácidos graxos aumentou o número de animais que ficaram gestantes após a primeira inseminação artificial, mas não foram observadas diferenças na taxa de prenhez ao final do estudo (McNamara et al., 2003).

Como os benefícios da gordura suplementar têm origem no perfil de ácidos graxos contidos no suplemento, e sabendo que a absorção dos ácidos

graxos em ruminantes é limitada pela biohidrogenação no rúmen, nas últimas décadas, os estudos têm sido delineados para avaliar se o grau de saturação dos ácidos graxos poderia estar influenciando a fertilidade em vacas leiteiras (Juchem, 2007).

Segundo Ambrose et al. (2006), nas vacas alimentadas com semente de linhaça (rica em 18:3 n-3) as taxas de prenhez tiveram tendência ($p=0,07$) a ser maiores quando comparadas com as vacas suplementadas com semente de girassol (rica em 18:2 n-6). Segundo Juchem (2007), a suplementação de sais de cálcio de óleo de peixe (n-3) não melhorou a taxa de prenhez à primeira inseminação artificial, quando comparado com as taxas de animais suplementados com sebo ou com sais de cálcio de óleo de palma, embora a taxa de prenhez na segunda inseminação artificial pós-parto tenha sido melhor nos animais que receberam ácidos graxos n-3.

De maneira geral, as pesquisas mostram que o fornecimento de gordura em vacas leiteiras melhora os índices de fertilidade e que as respostas à gordura suplementar variam de acordo com o perfil de ácidos graxos, embora as respostas não sejam consistentes. Assim, o fornecimento de ácidos graxos n-3 e n-6 melhorou os índices de fertilidade em alguns estudos, e os efeitos positivos observados foram contrários em outros.

2.4.1.2. Soja grão tostada

Com o desenvolvimento de produtos protéicos oriundos da soja para alimentação humana, os nutricionistas perceberam que estes produtos poderiam

ser uma alternativa protéica importante na nutrição animal. A soja, pelas suas qualidades nutricionais, facilidade de adaptação a quase todas as regiões, alta produção e facilidade de cultivo, pode ser considerada como um dos alimentos para a população do futuro. Em sua constituição possui proteína de alta qualidade e elevada concentração de energia (Faldet e Satter, 1991).

Os processamentos térmicos da soja têm como objetivo aumentar o valor nutricional para os animais. Na alimentação de não ruminantes, o processamento térmico reduz os fatores tóxicos que podem causar efeitos deletérios sobre os animais, tais como: inibidores de tripsina e quimotripsina, lectinas, fatores alérgicos e fatores antivitaminicos. Na alimentação de ruminantes, o processamento térmico da soja eleva a fração de proteína não degradável no rúmen e a palatabilidade (Satter et al., 1994).

Com o objetivo de avaliar o grau de processamento térmico da soja, existem vários métodos, entre os quais o índice de atividade ureática (IAU) tem sido relevante devido a facilidade de execução e baixo custo laboratorial (Satter et al., 1994). O IAU se baseia no princípio de que o calor desnatura a urease e os inibidores de tripsina na mesma proporção. O IAU está relacionado com a liberação de amônia da uréia pela ação da enzima urease presente na soja (Ward, 1996). Isso induz a mudança no pH da solução, que é expressa como índice. Assim, uma solução sub-processada apresentará grande mudança no pH, enquanto uma solução super-processada não registrará mudanças no pH. Desta forma a

indústria americana de soja recomenda IAU entre 0,05 a 0,20, na tentativa de identificar os extremos do processamento (Ward, 1996).

De maneira geral, o tratamento térmico promove reação entre proteínas e açúcares dos alimentos, formando complexos chamados de produtos de Maillard e a formação destes complexos é influenciada pelos teores de proteínas, açúcares, umidade, temperatura e tempo de aquecimento dos alimentos (Mauron, 1981).

Dentre os principais tratamentos térmicos da soja estão a tostagem e a extrusão. Durante a tostagem a soja grão é exposta a 145°C por 30 minutos (Satter et al., 1994). O tratamento térmico promove a destruição dos fatores antinutricionais bem como aumento na porcentagem de proteína não degradável no rúmen, que passa de 27% para 65% da proteína bruta (Faldet e Satter, 1991). A tostagem também eleva a porcentagem de nitrogênio insolúvel em detergente neutro.

A inclusão de soja integral processada termicamente nas dietas de vacas leiteiras resultou em ótima fonte de proteína, lipídeos e aminoácidos protegidos da fermentação ruminal (Scott et al., 1991), o que auxilia na melhora do balanço energético no início da lactação.

2.4.2. Aditivos gliconeogênicos (propileno glicol)

O propileno-glicol, também chamado de metil-etileno-glicol, é um álcool de aparência cristalina e oleosa, comumente

utilizado como solvente e conservante em produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentos processados (Christopher et al., 1990). Nos ruminantes o propileno-glicol é considerado composto gliconeogênico que tem sido utilizado no tratamento de doenças metabólicas características do período pós-parto, como cetose e fígado gorduroso (Christensen et al., 1997).

O uso deste precursor de glicose tem se mostrado efetivo na redução das concentrações de ácidos graxos não esterificados (Studer et al., 1993; Grummer et al., 1994; Christensen et al., 1997) e de triglicérides hepáticos (Studer et al., 1993), assim como no aumento nas concentrações de ácido propiônico (substância gliconeogênica), que estimula a secreção de insulina (Grummer et al., 1994). O efeito fisiológico do propileno-glicol provavelmente é mediado pelo incremento nas concentrações de insulina, que é antilipolítica e sensível à elevada concentração de glicose sanguínea (Christensen et al., 1997).

De acordo com Emery et al. (1964), cerca de 99% do propileno-glicol administrado é metabolizado pelo organismo. Os mesmos autores não observaram concentrações significativas de resíduos de propileno-glicol no leite. No mesmo trabalho, as concentrações sanguíneas desta substância permaneceram abaixo de 10mg/100ml, e sua excreção pela urina não excedeu 10g/dia nos animais que receberam propileno-glicol.

Emery et al. (1967) mostraram que a utilização de propileno-glicol radioativamente marcado (^{14}C)

promoveu aumento na radioatividade da glicose sanguínea, atingindo sua concentração máxima dentro de três horas após a administração intraruminal do propileno-glicol, o que representa aproximadamente 28% da concentração de glicose sanguínea total.

O mecanismo pelo qual o propileno-glicol influencia a concentração plasmática de insulina não está bem estabelecido. Emery et al. (1964) concluíram que o efeito hiperglicêmico do propileno-glicol era consequência de processos metabólicos, caracterizados pela produção de ácido propiônico no rúmen após a administração de propileno-glicol (metabolismo ruminal), bem como por sua absorção intacta, onde maior porção do propileno-glicol é convertida em glicose no fígado (metabolismo hepático).

Estudos (Grummer et al., 2004; Butler et al., 2006) têm mostrado a elevação na concentração de glicose após administração de propileno glicol, o que pode ser atribuído as suas propriedades gliconeogênicas. A elevação na concentração de glicose quando o propileno glicol é fornecido para vacas, resulta na elevação da concentração de insulina sanguínea (Christensen et al., 1997).

Segundo Czerkawski e Breckkerindge (1973), o propileno glicol é metabolizado pela microbiota ruminal através de duas vias metabólicas: a redução a n-propanol ou a formação de lactato. Inicialmente, o propileno-glicol no rúmen é convertido a propionaldeído através de processo de desidratação simples (Czerkawski e Breckkerindge, 1973) e, posteriormente, o

propionaldeído sofre processo de redução a n-propanol, produzindo o ácido propiônico. A produção de propionato no rúmen também pode ocorrer de forma indireta, através da formação de ácido láctico ruminal (Gupta et al., 1960). A fermentação do propileno-glicol no rúmen é caracterizada pela produção de dióxido de carbono e por inibição significativa da produção de metano (Emery et al., 1967), sendo que o produto final da fermentação ruminal varia de acordo com o tipo de dieta (Emery et al., 1967). A produção de metabólitos como ácido propiônico, propionaldeído e n-propanol é menor em dietas à base de forragens, quando comparadas com dietas ricas em concentrados (Czerkawski e Breckkerindge, 1973).

Quanto ao metabolismo hepático do propileno glicol sabe-se que o fígado é o principal local de produção de glicose a partir desta substância, uma vez que são encontradas baixas concentrações de propileno glicol no sangue periférico, após a sua administração, o que sugere sua rápida taxa de metabolização (Gupta et al., 1960; Huff et al., 1961). Existem três vias do metabolismo hepático do propileno-glicol, que tem como resultado final a produção de glicose. Uma vez absorvido pela parede ruminal ou intestinal, o propileno glicol é transportado pela corrente sanguínea até o fígado onde poderá sofrer processo de fosforilação ou, então, permanecer na sua forma livre (Miller et al., 1965). O propileno glicol livre é transformado em lactaldeído ou propionaldeído através de diferentes reações metabólicas (Miller et al., 1965), tendo como produto final a glicose. Já a forma fosforilada do propileno-glicol pode ser metabolizada

no fígado até lactato tendo com reação final também a produção de glicose.

Devido as suas propriedades gliconeogênicas, o propileno-glicol gera grandes perspectivas na sua utilização como aditivo alimentar para vacas leiteiras de alta produção, uma vez que pode propiciar balanço energético favorável no período de transição, diminuindo a incidência de doenças metabólicas no pós-parto e melhorando o desempenho produtivo e reprodutivo do animal, o que pode resultar na otimização da eficiência do sistema de produção.

2.5. Endocrinologia da reprodução e dinâmica folicular no período de transição

Após o parto, a estratégia reprodutiva para a vaca leiteira deve ser a de restabelecer a prenhez num período relativamente curto, e que seja econômica e produtivamente viável para o sistema. Essa estratégia é atingida quando se retira a supressão da dinâmica folicular ovariana no período pós-parto, favorecendo, então, melhores índices reprodutivos, tais como a redução no intervalo parto-primeira ovulação e parto-concepção (Rhodes et al., 2003).

No período pós-parto, e coincidindo com a regressão do corpo lúteo da gestação, apresenta-se um período anovulatório ou de anestro. A duração deste período pode ser afetada por fatores como nutrição, condição corporal, lactação, raça, idade, amamentação, época do parto, patologias uterinas e doenças crônicas debilitantes (Savio et al., 1990).

Do ponto de vista endócrino, o anestro pós-parto pode estar relacionado com inabilidade dos ovários em responderem ao estímulo das gonadotropinas, ou pela inabilidade da hipófise para secretar concentrações suficientes de gonadotropinas que estimulem o crescimento folicular e ovulação (Nett, 1987).

Com o advento das dosagens hormonais e da ultra-sonografia, os pesquisadores têm aportado ferramentas para esclarecer os processos que levam ao atraso no retorno da atividade ovariana cíclica pós-parto. Lamming et al. (1981) observaram que, antes do parto, as concentrações plasmáticas de hormônio luteinizante (LH) e do hormônio foliculo estimulante (FSH) apresentavam-se baixas devido ao feedback negativo da progesterona e estrógeno, presentes em altas concentrações no pré-parto. Após o parto, as concentrações plasmáticas de FSH aumentam entre o 5^o e 10^o dia, enquanto o LH apresenta incremento significativo entre o 10^o e 20^o dia pós-parto. O fato das concentrações de FSH serem altas no pós-parto imediato sugere que este hormônio não pode ser considerado como fator limitante para o desenvolvimento folicular durante este período (Peters et al., 1986).

O parâmetro endócrino de maior importância e determinante para que ocorra a primeira ovulação pós-parto é o aumento na frequência da liberação pulsátil de LH (Webb et al., 1980; Nett, 1987). As concentrações de LH hipofisário diminuem drasticamente durante a gestação e, durante o período pós-parto, aumentam gradativamente, o que sugere que fatores endócrinos, presentes durante a gestação,

influenciam o perfil plasmático do LH, sendo esses fatores a progesterona e o estrógeno (Nett, 1987). Segundo Goodman e Karsh (1980), em estudo feito com ovelhas ovariectomizadas, a progesterona atua reduzindo a frequência da liberação pulsátil de LH, e o estradiol inibe a amplitude dos pulsos de LH.

Aproximadamente 50% das vacas leiteiras no período pós-parto apresentam ligeiro aumento nas concentrações plasmáticas de progesterona, antes do restabelecimento completo da ciclicidade (Lamming et al., 1981) e que é precedido por um pico de LH. Webb et al. (1980), Lamming et al. (1981) e Peters e Laming (1986) afirmaram que o incremento nas concentrações de progesterona era devido, provavelmente, a presença de folículos luteinizados que não possuem capacidade esteroideogênica adequada, o que pode estar relacionado com falha nos receptores para LH.

Rhodes et al. (2003), em estudo realizado com vacas leiteiras em anestro pós-parto e tratadas com progesterona, verificaram que o aumento nas concentrações plasmáticas do hormônio (fontes endógenas ou exógenas), durante o período pós-parto, é importante para a manifestação de estro e da função luteal normal, provavelmente devido a mudanças na quantidade de receptores para estradiol no hipotálamo, bem como incremento na síntese do mesmo, refletindo-se em aumento nas concentrações de estradiol no fluido folicular, aumento na liberação pulsátil de LH e aumento dos receptores para LH nas células da granulosa e da teca de folículos pré-ovulatórios.

No final da gestação as concentrações de receptores para estradiol no hipotálamo e na hipófise são baixas (Nett, 1987). As concentrações de receptores aumentam no 22^o dia pós-parto, atingindo sua máxima concentração aos 35 dias (Wise et al., 1986), o que coincide com a máxima concentração de LH na hipófise. Isto sugere que as baixas concentrações de receptores para estradiol reduzem a sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise ao efeito do feedback positivo produzido pelo hormônio durante o período pós-parto imediato (Nett, 1987), indicando que elevadas concentrações de estradiol neste período seriam necessárias para induzir um pico pré-ovulatório de LH.

Apesar da dificuldade para se avaliar a dinâmica folicular no período pós-parto imediato (5-15 dias), devido à localização do útero em involução, o uso da ultra-sonografia tem sido um grande recurso no entendimento das bases fisiológicas que lideram o retorno a ciclicidade ovariana.

O crescimento dos folículos ovarianos na espécie bovina ocorre em padrão de ondas foliculares que acontecem durante todo o ciclo estral (Bo et al., 1994; Fortune, 1994; Ginther et al., 1989), durante a gestação (Ginther et al., 1989, Pierson e Ginther, 1988), antes da puberdade (Adams et al., 1992) e no período pós-parto (Beam; Butler, 1997). O processo de crescimento de folículos antrais do tamanho aproximado de 300 µm até os 3-5 mm, quando podem ser detectados através da ultra-sonografia, demora aproximadamente de 80 a 120 dias (Lussier et al., 1987) e é caracterizado por ser independente do

estímulo das gonadotropinas (Mihm et al., 2002).

Durante o ciclo estral, uma onda ou grupo de folículos, em torno de 10 a 50, e com tamanho aproximado de 2 a 3mm, emergem nos primeiros dias após o estro (Fortune, 1994). Nos próximos dias do ciclo, uma parte destes folículos aumenta seu tamanho (4-6mm), sendo que somente de dois a cinco folículos maiores do grupo continuarão a crescer, enquanto os outros regredirão (Fortune et al., 1991). Deste grupo de folículos, pelo menos um continuará seu crescimento, tornando-se o folículo dominante (Fortune et al., 1991). O desenvolvimento do folículo dominante é dividido em três categorias: fase de crescimento, fase estática e fase de regressão (Silcox et al., 1993). Na primeira onda de crescimento folicular, a fase de crescimento vai desde a emergência folicular até aproximadamente o oitavo dia após o estro; a fase estática ocorre entre o 8^o e 10^o dia e a fase de regressão ocorre após o 10^o dia (Mihm et al., 2002). Em torno do 10^o dia do ciclo estral ocorre a emergência da segunda onda de crescimento folicular e o processo se reinicia (Ginther et al., 1989). O folículo dominante desta segunda onda regride (se houver três ondas) ou se torna folículo ovulatório caso a dinâmica folicular for de duas ondas. Dentre os fatores determinantes para a apresentação de duas ou três ondas de crescimento folicular estão a taxa de crescimento folicular e a duração da fase luteal (Vasconcelos et al., 1998).

O desenvolvimento folicular pós-parto é caracterizado pelo crescimento e regressão de 2 a 5 folículos por dia com

diâmetro menor que 8 mm (Savio et al., 1990). Em condições normais, o folículo dominante inicia seu crescimento entre 10 a 14 dias após o parto, passando pelas várias etapas de desenvolvimento até a ovulação, pode sofrer atresia, ou então, se tornar em cisto ovariano (Rhodes et al., 2003).

Segundo Lamming et al. (1981), a ovulação ocorre quando a produção de estrógeno pelo folículo dominante for suficiente para estimular o pico pré-ovulatório de LH e FSH. Por sua vez, a produção de estrógeno depende do suporte decorrente de pulsos regulares de FSH e LH. Os mesmos autores verificaram que a concentração de gonadotropinas está associada à concentração plasmática do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) que, junto com a insulina, estimulam o processo da esteroideogênese e proliferação das células da granulosa e da teca, atuando de maneira sinérgica com o FSH e o LH (Webb et al., 1980; Lucy et al., 1991). Beam et al. (1997) mostraram que altas concentrações de IGF-1 estão relacionadas com diminuição no intervalo parto-concepção.

Segundo Funston et al. (1996) e Mihm et al. (2002), existem no fluido folicular outras substâncias importantes na determinação da dominância ou atresia folicular. Tais substâncias são as proteínas ligadoras do fator de crescimento semelhante à insulina (IGFBP), que são classificadas de acordo com o seu peso molecular. Os mesmos autores relatam concentrações elevadas de IGFBP-3 em folículos ovulatórios, enquanto em folículos menores ou atrésicos encontraram

concentrações significativas de IGFBP-2, 4 e 5.

São muitos os hormônios que atuam de maneira sincronizada e que estão envolvidos na regulação da função reprodutiva do animal, sendo o equilíbrio entre todos eles de vital importância para que o retorno à atividade ovariana após o parto. De maneira geral, nas vacas de leite, o primeiro folículo dominante no pós-parto pode ser detectado nos primeiros dez dias de puerperio (Roche et al., 1992). Segundo Beam e Butler (1999), em 46% dos animais o destino do primeiro folículo dominante é a ovulação, 31% dos animais desenvolvem folículo anovulatório e não estrógeno-ativo, seguindo várias ondas foliculares antes da primeira ovulação, e 23% dos animais apresentam desenvolvimento do primeiro folículo dominante estrógeno-ativo que se torna cístico. Porém, a duração do anestro pós-parto está relacionada com o destino do primeiro folículo dominante.

2.6. Efeito da suplementação de diferentes fontes energéticas na produção de leite

No que se refere à suplementação de gordura na dieta de vacas leiteiras, as pesquisas mostram variações consideráveis com a utilização de diferentes fontes de gordura. Vários fatores podem contribuir para esta variação nas respostas em produção, como os níveis de inclusão de gordura na dieta, o perfil dos ácidos graxos das fontes suplementadas, a característica da dieta basal e o estágio de lactação (Onetti e Grummer, 2004). A resposta

em produção de leite à suplementação de gordura é curvilínea, ou seja, a partir de determinado ponto, diminui com o aumento da inclusão de gordura. A inclusão de lipídeos tem sido recomendada a aproximadamente 6% em matéria seca da dieta total (Palmquist e Jenkins, 1980).

Os efeitos negativos na produção de leite, quando da maior inclusão de gordura a dieta, estão relacionados à disponibilidade de energia para as bactérias ruminais e redução no consumo. Potencialmente, os mecanismos que poderiam estar relacionados com a queda no consumo envolvem efeitos negativos na fermentação ruminal, motilidade intestinal, palatabilidade da dieta, liberação de hormônios intestinais e ou aumento na oxidação de ácidos graxos no fígado (Onetti e Grummer, 2004).

Os ácidos graxos insaturados são considerados como tóxicos para as bactérias celulolíticas do rúmen. Portanto, a adição de grandes quantidades de gordura insaturada na dieta implicaria em redução da degradabilidade da fibra, e conseqüente redução na ingestão de matéria seca (Jenkins, 1993, Palmquist e Jenkins, 1980). Inclusões maiores de lipídios protegidos ou inertes, como no caso de sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados, diminuem a quantidade de carboidratos fermentáveis reduzindo a síntese microbiana, uma vez que a microbiota ruminal não utiliza gordura como fonte energética.

A utilização de gordura na dieta de vacas leiteiras é frequentemente acompanhada

de queda na proteína do leite (Jenkins e McGuire, 2006). Em média, o conteúdo de proteína do leite declina 0,03 unidades percentuais para cada 100 gramas de gordura suplementar ingerida. Apesar de ser observado aumento de produção de leite, quando o suplemento de gordura é adicionado a dieta balanceada, não há aumento proporcional da produção de proteína, ocorrendo, portanto, queda na concentração de proteína do leite (Jenkins e McGuire, 2006).

Wu e Hubert (1994), em revisão dos efeitos da suplementação com gordura sobre o teor de proteína do leite, observaram que a utilização de suplementos lipídicos aumenta a produção de leite, mas causa redução no teor de proteína. A hipótese proposta para explicar esta queda foi que, em parte, a redução no teor de proteína é função do efeito de diluição devido ao aumento na produção total de leite, mas a principal razão estaria ligada à menor disponibilidade de aminoácidos para glândula mamária.

Faldet e Satter (1991) avaliaram o efeito da tostagem da soja integral na dieta de vacas leiteiras no início da lactação, utilizando silagem de alfafa como única fonte de forragem. As dietas foram constituídas de 50% de silagem de alfafa e 50% de concentrado, com adição na matéria seca de 10% de farelo de soja ou 13% de soja integral crua ou 13% de soja tostada (3 kg). A inclusão de soja tostada aumentou a produção de leite em 4kg/dia e foi observado aumento significativo na produção de gordura e proteína total com a utilização de soja grão tostada; os teores de gordura não foram afetados, mas foi observado

redução nos teores de proteína em 5% em relação ao tratamento com farelo de soja.

Villela et al. (2003), em estudo com vacas no início de lactação, recebendo 3kg de soja grão tostada misturada ao concentrado e submetidas a pastejo de coast-cross, observaram aumento na produção de leite e aumento na produção de leite corrigido para 3,5% de gordura ($P < 0,05$) e em aumento nos teores de gordura para o grupo soja grão tostada ($P = 0,06$).

Knapp et al. (1991), avaliando a resposta em produção com o aumento da inclusão de soja grão tostada em vacas leiteiras, observaram aumento na produção de leite, na produção de gordura total e nos teores de gordura do leite com o aumento da inclusão de soja grão tostada de 12% para 18% da matéria seca. Em relação aos teores de proteína, foram observados efeitos negativos, porém, houve efeito positivo na produção total de proteína, quando a inclusão passou de 12 para 18% de soja grão tostada.

Nielsen e Ingvarstsen. (2004), em revisão de vários trabalhos avaliando o efeito do uso de propileno glicol, não observaram efeitos significativos na produção e composição do leite. Em alguns estudos com suplementação de propileno glicol em vacas antes do parto e/ou após o parto, observaram tendência no aumento da produção, e em outros estudos não houve diferença. O aumento na produção de leite é esperado quando há aumento da concentração energética da dieta. O propileno glicol é um aditivo com grande conteúdo de energia, entretanto os estudos demonstraram apenas uma tendência em aumento de produção,

provavelmente devido às dosagens utilizadas não terem sido capazes de aumentar substancialmente a energia da dieta (Nielsen e Ingvarstsen, 2004).

Vacas em início de lactação apresentaram tendência em diminuir a concentração de gordura do leite com a utilização de propileno glicol (Nielsen e Ingvarstsen, 2004). Fisher et al. (1973) observaram redução significativa no teor de gordura quando foi utilizado 360 gramas de propileno glicol por dia, durante oito semanas no pós-parto. A tendência na redução da concentração de gordura poder ser em razão do decréscimo nas concentrações plasmáticas de AGNE. Estas baixas concentrações levariam a diminuição de captação destes ácidos graxos pela glândula mamária. Outra razão para a tendência de queda nos teores de gordura poderia ser atribuída a baixa proporção de acetato:propionato no rúmen, observada com a suplementação de propileno glicol, o que poderia reduzir a quantidade de acetato disponível para a síntese de novos ácidos graxos pela glândula mamária (Nielsen e Ingvarstsen, 2004).

O aumento no teor de proteína seria esperado com a suplementação de propileno glicol, assumindo que o propileno glicol induz à diminuição na utilização de aminoácidos para gliconeogênese, e que esta utilização de aminoácidos seria limitante para o aumento de síntese protéica para glândula mamária (Griinari et al., 1997). Entretanto, a suplementação com propileno glicol não tem afetado a proteína do leite no início da lactação (Nielsen e Ingvarstsen, 2004).

Alguns estudos têm reportado alterações nos teores de lactose com a suplementação de propileno glicol no início da lactação. Fisher et al. (1973) observaram aumento de 0,2 unidades percentuais quando vacas em início de lactação foram suplementadas com 495g de propileno glicol por dia, enquanto a dosagem de 178 a 360g por dia não apresentou efeito nos teores de lactose. Butler et al. (2006) observaram aumento significativo de 0,12 unidades percentuais nas concentrações de lactose ($P < 0,05$) com a suplementação de 500 mL de propileno glicol. Porém, este mesmo efeito não foi observado em vacas no meio de lactação com a suplementação de 200 a 400g de PG (Shingfield et al., 2002b).

Butler et al. (2006), fornecendo 500 mL de propileno glicol via sonda oral diariamente, no período de 10 dias antes do parto até 25 dias pós-parto, não observaram efeito do tratamento no consumo, na produção de leite e na concentração de proteína do leite. No entanto, a concentração de gordura do leite tendeu a reduzir ($P = 0,07$), sendo que a concentração de lactose foi aumentada ($P < 0,05$).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos utilizados neste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (40/2007 CETEA/UFMG).

O experimento foi realizado na Fazenda Bom Jardim durante o período de março a julho de 2007. A fazenda esta localizada no município de Oliveira,

região centro-oeste de Minas Gerais. Localiza-se a latitude 20°41'45" sul e longitude 44°49'37" oeste, estando a altitude de 982 metros. Possui clima tropical de altitude, com médias anuais de temperatura em torno de 18,6°C. A fazenda se encontrava em processo de implantação, apresentando rebanho médio de 200 vacas em lactação ao final do experimento, com produção de 5.000 litros de leite/dia, com projeto final para 10.000 litros de leite/dia.

3.1. Animais e Tratamentos

Foram utilizados 40 animais (primíparas) da raça Holandesa, no período de 28 dias antes da data prevista para o parto até o 46^o dia pós-parto. Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais:

Grupo Controle: Dieta base no pré e pós-parto (Tabela 4 e Tabela 5);

Grupo Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados¹: Dieta base no pré-parto suplementada com 100g de sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados/animal dia e dieta base pós-parto suplementada com 250g de sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados/animal/dia;

Grupo Soja tostada: Dieta base no pré-parto suplementada com 400g de soja grão tostada/animal dia e dieta base pós-parto suplementada com 800g soja grão tostada /animal/dia; e

Grupo Propileno glicol: Dieta base pré e pós-parto suplementada com propileno glicol 300mL animal/dia.

¹ Megalac-E® (ARM & HAMMER. QGN)

Tabela 4. Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais usadas no pré-parto

	Tratamentos			
	Controle	SCAGP	Soja tostada	Propileno-glicol
Ingredientes, kg				
Silagem de milho	24,0	24,0	24,0	24,0
Milho moído	1,0	0,5	0,5	0,5
Farelo de soja	1,6	1,6	1,4	1,6
Soja tostada	----	----	0,4	----
Megalac - E*	----	0,1	----	----
Propileno-glicol (mL)	----	----	----	300
Premix min-vit pré-parto ²	0,4	0,4	0,4	0,4
Nutrientes, % da MS				
MS	42,1	42,1	42,2	42,1
PB	14,6	14,8	14,9	14,9
FDN	41,0	42,0	42,5	42,5
FDA	23,6	24,4	24,7	24,6
EE	3,5	3,5	3,5	3,5
Ca	0,7	0,7	0,7	0,7
P	0,4	0,4	0,4	0,4
ELI (Mcal/kg)	1,5	1,5	1,5	1,5

*Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados. Composição: extrato etéreo 85%; ácido linoléico (C18:2) 45%; ácido linolênico (C18:3) 6%.

² Premix min-vit pré-parto. Composição por kg: Ca: 5%; P: 1%; Mg: 1%; Na: 1%; Cl: 1,15%; S: 0,8%; Co: 39,3ppm; Cu: 660ppm; Fe: 775ppm; I: 19,5ppm; Mn: 1630ppm; Se: 8,98 ppm; Zn: 2368 ppm; VitA: 260KIU; VitD: 35KIU; VitE: 2600UI; Biotina: 100ppm.

Tabela 5. Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais usadas no pós-parto

	Tratamentos			
	Controle	SCAGP	Soja Tostada	Propileno-glicol
Ingredientes, kg				
Silagem de milho	32,0	32,0	32,0	32,0
Milho moído	4,5	3,5	3,5	4,5
Farelo de soja	4,2	4,5	3,9	4,2
Soja tostada	----	----	0,8	----
Megalac - E*	----	0,25	----	----
Propileno-glicol (mL)	----	----	----	300
Bicarbonato de Sódio	0,12	0,12	0,12	0,12
Fosfato bicálcico	0,12	0,12	0,12	0,12
Calcáreo	0,14	0,14	0,14	0,14
Óxido de magnésio	0,04	0,04	0,04	0,04
Premix min-vit pós-parto ³	0,08	0,08	0,08	0,08
Nutrientes, % da MS				
MS	40,1	40,1	40,1	40,1
PB	16,9	17,6	17,5	16,9
FDN	33,9	34,4	35,3	33,9
FDA	19,2	19,7	20,2	19,2
EE	3,7	3,8	3,7	3,6
Ca	1,1	1,1	1,1	1,1
P	0,5	0,5	0,5	0,5
ELI (Mcal/kg)	1,7	1,7	1,7	1,7

* Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados

³ Premix min-vit pós-parto. Composição por Kg: Ca: 21%; P:15%; Mg:3%; S: 3%; Co: 100ppm; Cu: 3000ppm; I: 180ppm; Mn: 5000ppm; Se: 80ppm; Zn: 12000ppm; VitA: 1000KIU; VitD: 250KIU; VitE: 3250UI.

² Nutron Pré-parto 570 CI Biotina

³ NutronPhos 150 ADE

A alimentação dos animais foi feita duas vezes ao dia (7:30 e 19:30 horas) e a ordenha realizada às 7:00 e 19:00 horas.

Os animais foram estabulados em sistema tipo "Free Stall", tendo área específica para a parição, sendo esta liberada somente momentos antes do parto. Os animais foram confinados 28 dias antes da data prevista do parto, para adaptação às instalações. O fornecimento dos aditivos iniciou aos 21 dias antes da data de parto prevista, sendo oferecidos antes da primeira alimentação do dia. Os suplementos energéticos foram fornecidos após a individualização dos animais na pista de alimentação, em que foram adaptadas correntes individuais

para contenção dos mesmos por uma coleira, garantindo assim o consumo individual dos aditivos. Na tabela 6 estão descritas as quantidades de farelo de soja e milho moído utilizadas para misturar as diferentes fontes energéticas bem como as quantidades oferecidas para o grupo controle. É importante ressaltar que estas quantidades foram extraídas da dieta total e que a diferença na quantidade de milho moído e farelo de soja fornecido, tinha o objetivo de manter o equilíbrio da dieta base, para facilitar a distribuição de alimentos a todos os grupos. No pós-parto a soja tostada não foi misturada à nenhum outro ingrediente.

Tabela 6. Ingredientes utilizados na mistura das diferentes fontes energéticas oferecidas antes da primeira alimentação do dia

	Pré-parto		Pós-parto	
	Farelo de Soja (kg)	Milho Moído (kg)	Farelo de Soja (kg)	Milho Moído (kg)
Controle	0,6	1,0	0,3	1,0
SCAGP	0,6	0,5	0,6	---
Soja Tostada	0,4	0,5	---	---
Propileno glicol	0,6	0,5	0,3	1,0

Todos os tratamentos foram mantidos até o 21^o dia de lactação. Após o dia 21 todos os animais foram mantidos em um mesmo lote recebendo alimentação em quantidade suficiente para atender as exigências nutricionais da categoria animal segundo o NRC (2001).

3.2. Avaliações

3.2.1. Consumo de matéria seca e análises de alimentos

O consumo de matéria seca, por grupo, foi avaliado diariamente pela diferença

entre o fornecido e as sobras. Amostras das dietas e das sobras foram coletadas e pesadas diariamente para avaliação do consumo de matéria seca. O teor de matéria seca das amostras das dietas, de cada grupo, foi determinado após a pré-secagem das amostras realizada em estufa de ventilação forçada, regulada a 65°C, por 72 horas. As amostras pré-secas e amostras dos ingredientes foram posteriormente moídas a 1mm, em moinho tipo Thomas Willey anteriormente a desidratação a 105°C por oito horas (AOA, 1980). Amostras das dietas oferecidas e das sobras de cada grupo no pré e pós-parto foram

coletadas semanalmente, com as amostras compostas das semanas foi realizado um pool mensal, que foi conservado em freezer (-20°C) até a realização das seguintes análises: matéria seca, proteína bruta (método Kjeldahl AOAC, 1990), FDN e FDA (método Van Soest et al., 1991), extrato etéreo (AOAC 1980) e cinzas (método Van Soest et al., 1991). As análises foram realizadas no laboratório de nutrição animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

3.2.2. Escore de condição corporal (ECC) e peso corporal

O ECC foi avaliado por inspeção da pelve e inserção da cauda, costelas e lombo, segundo a escala de 1 a 5 pontos de Edmonson et al. (1989), sendo 1: muito magra, 2: magra, 3: média, 4: boa e 5: gorda. A avaliação foi feita por um único observador, no início da fase experimental, no dia do parto e, semanalmente, durante o período experimental (dias 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 pós-parto, sendo o dia 0 considerado como o dia de parto). O peso corporal foi obtido por meio da utilização de fita nos mesmos dias de avaliação do ECC.

3.2.3. Perfil metabólico e hormonal

Amostras de sangue para a determinação do perfil metabólico e hormonal foram coletadas via punção da veia ou artéria coccígea, através de tubo com vácuo e EDTA de 5 mL e tubo com vácuo e fluoreto de sódio de 5 mL, nos dias -10, -5 (período pré-parto), no dia do parto, e nos dias 7, 14, 21, 28, 35 e 42 pós-parto.

As amostras foram obtidas antes do fornecimento das fontes energéticas e três horas após primeira alimentação do dia. O material obtido foi centrifugado e utilizado para determinação de insulina, glicose, ácidos graxos não esterificados (AGNE) e IGF-I.

Para determinação da progesterona plasmática, amostras de sangue, via punção da veia ou artéria coccígea, foram coletadas uma vez por semana a partir do 10º dia pós-parto até o dia 45 pós-parto.

As análises do plasma foram realizadas no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. A glicose plasmática foi analisada pelo método enzimático da glicose oxidase (Glucose Analyser YSI 300 Plus), os AGNE pelo de kit enzimático (Randox do Brasil), a insulina por radioimunoensaio utilizando-se kits comerciais (Linco Research) com sensibilidade do teste de 2µU/mL. A análise de IGF-I foi realizada por ensaio radioimunométrico (IRMA) com extração, utilizando-se kits comerciais (DSL-5600), a sensibilidade do teste foi 0,80 ng/mL, e os CV intra e inter-ensaio foram 3,4% e 8,2%, respectivamente. A análise de progesterona foi realizada por radioimunoensaio, utilizando-se kits comerciais (Adaltis Progesterone Maia), a sensibilidade, CV intra e inter-ensaio foram 0,022 ng/mL, 5,7% e 8,17% respectivamente.

3.2.4. Produção e Composição de leite

A produção de leite foi mensurada nos dias 10º, 20º, 30º e 40º da lactação.

Nestes mesmos dias foram obtidas amostras para determinação da composição do leite. As amostras foram refrigeradas em recipientes plásticos a 4°C com bromopol (2-bromo 2-nitropropano 1,3-diol), na relação de 10 mg de bromopol para 50 mL de leite. As amostras foram enviadas para análise de composição química no Laboratório de Qualidade de Leite da Escola de Veterinária da UFMG. Para estas análises foi utilizado o método de raios infravermelhos proximais, utilizando o aparelho Bentley 2000 (Bentley Instruments, Chaska, EUA).

A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (LCG 3,5%) foi obtida pela equação citada por Gravert (1987).

$LCG\ 3,5\% = (0,35 \times PL) + (16,2 \times PG)$
 $LCG\ 3,5\% =$ Produção de leite corrigido para 3,5 % de gordura (kg/dia).
 $PL =$ Produção de leite (kg/dia)
 $PG =$ Produção de gordura (kg/dia)

A produção de leite corrigida para o teor de sólidos totais (LCST) foi calculada segundo a equação descrita por Tyrrel e Reid (1965).

$LCST = (12,3 \times PG) + (6,56 \times ESD) - (0,0752 \times PL)$
 $LCST =$ Produção de leite corrigida para teor de sólidos totais
 $PG =$ Produção de gordura (kg/dia)
 $ESD =$ Produção de extrato seco desengordurado
 $PL =$ Produção de leite (kg/dia)

3.2.5. Atividade ovariana

Foram realizados exames ultrasonográficos dos ovários, por via transretal, utilizando-se ultra-som

portátil da marca ALOKA, modelo SSD-500, acoplado a transdutor linear de 5 MHz. Os exames foram realizados todas as segundas, quartas e sextas-feiras a partir do 10^o ao 46^o dia pós-parto.

Durante este período foram registrados, em fichas individuais, os diâmetros máximos do maior e do segundo maior folículo presentes em cada ovário, assim como da área da seção transversal do corpo lúteo quando presente. Os folículos encontrados foram classificados de acordo com o diâmetro em quatro categorias assim determinadas: Classe I (3-5 mm), Classe II (6-9 mm), Classe III (10-15 mm) e Classe IV (>15 mm) (Lucy et al., 1991).

A emergência da onda folicular foi definida como o dia em que foi observado um folículo com diâmetro maior ou igual a 4 mm (Borges, 2001). Os diâmetros do maior e do segundo maior folículos foram medidos pela maior distância (mm) entre dois pontos da cavidade antral dos folículos com tamanho maior ou igual a 4 mm (Pierson e Ginther, 1998). A primeira ovulação pós-parto foi estabelecida como o primeiro dia em que desapareceu o folículo de maior diâmetro, coincidindo com a formação de um corpo lúteo no mesmo local (Borges, 2001), além de apresentar concentrações plasmáticas de progesterona acima de 1 ng/mL.

O cisto ovariano, quando presente, foi definido como a estrutura ovariana com mais de 25mm de diâmetro que persistiu nos ovários durante pelo menos 10 dias na ausência de corpo lúteo

O folículo persistente, quando presente, foi definido como a estrutura ovariana

maior de 8mm, na ausência de corpo lúteo ou estrutura ovariana cística, que persistira durante duas avaliações ultrasonográficas com intervalo de sete dias (López-Gatiús et al., 1998).

As características morfológicas do corpo lúteo, quando presente, foram avaliadas através da medição da área da seção transversal (cm²) e do volume do tecido luteal (cm³), calculado pela fórmula matemática modificada de Grygar et al. (1997).

$$V = 4/3 \pi \cdot a/2 \cdot (b/2)^2$$

em que:

V= Volume do tecido luteal

a = eixo longitudinal

b = eixo transversal

3.2.6. Avaliação Zootécnica

Foi acompanhado o parâmetro zootécnico intervalo parto - primeira ovulação (IPO) com o objetivo de observar e comparar a eficiência reprodutiva entre os grupos avaliados.

3.3. Análise Estatística

O perfil metabólico e hormonal, a dinâmica folicular e a produção e composição do leite foram analisados utilizando o delineamento inteiramente casualizado em arranjo em parcelas subdivididas sendo os grupos a parcela e o tempo a subparcela. Para testar as diferenças entre as médias os testes estatísticos utilizados foram Scott Knott e Duncan a 5%. A homocedasticidade e a normalidade dos dados foram testadas pelos testes de Bartlett e Lilliefors. Os valores de AGNE foram transformados

logaritmicamente. Para avaliar o escore de condição corporal foi realizada análise de variância não paramétrica utilizando o teste de Kruskal Wallis a 5% para grupos e Friedman para contrastes entre duas médias para o fator tempo (dias de avaliação) a 5%. O teste exato de Fischer a 5% foi utilizado para avaliar o número de ovulações por grupo experimental.

As análises foram realizadas utilizando-se os procedimentos do software General Linear Model of Statistical Analysis System, versão 6.12 (SAS, 1995).

O modelo matemático utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = m + T_i + e_{ijk} + A_k + T^* A_{ik} + e_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} = observação do tratamento i na avaliação j no animal k;

m= efeito médio geral;

T_i = efeito do tratamento i; sendo i = (1 a 4)

e_{ijk} = erro aleatório atribuído à parcela no tratamento i no animal k;

A_k = efeito da avaliação k;

T^*A = efeito da interação tratamento x avaliação;

e_{ijk} = erro aleatório atribuído a subparcela no tratamento i no animal k.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Ingestão de matéria seca

Na tabela 7 são apresentados os dados de consumo de matéria seca (MS) da dieta por grupo, no pré e pós parto. Estes resultados não apresentam valores estatísticos por não haver repetição e

apontam apenas o comportamento de ingestão de alimentos dos animais em cada grupo durante o período de transição. Assim observa-se que no pré-parto o maior consumo de MS foi no grupo SCAGP seguido pelos grupos propileno glicol, soja tostada e controle.

No pós-parto o grupo SCAGP continua mostrando o maior consumo seguido do grupo propileno glicol. Nesta fase do período de transição os grupos soja tostada e controle apresentaram o mesmo consumo.

Tabela 7. Consumo do grupo em matéria seca (MS) da dieta por dia observado em vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição

Tratamentos	Consumo em kg de matéria seca da dieta por dia	
	Pré - parto	Pós - parto
Controle	10,35	11,38
SCAGP*	11,61	13,06
Soja tostada	10,72	11,38
Propileno glicol	10,94	12,42

*Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados

4.2. Produção e composição do leite

Na tabela 8 estão apresentadas as médias de produção e composição do leite dos diferentes grupos no período de transição. Não foi observada diferença para volume de leite entre os diferentes grupos ($P = 0,067$). Os grupos SCAGP e propileno glicol apresentaram maior volume de leite corrigido para 3,5% de gordura (LCG 3,5%) e leite corrigido para sólidos totais (LCST) em relação ao

grupo soja tostada ($P = 0,047$). Não foi observado efeito dos grupos na composição do leite para os teores de gordura, proteína e sólidos totais ($P > 0,05$), porém o grupo propileno glicol apresentou maior teor de lactose quando comparado com os demais grupos ($P = 0,01$). Foi verificado aumento significativo de 0,10 unidades percentuais no teor de lactose em relação ao grupo controle (Tabela 8).

Tabela 8. Média e desvio padrão da produção de leite, LCG 3,5%, LCST e composição do leite nos primeiros 40 dias de lactação, de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição

Variáveis	Grupos				P	CV(%)
	Controle	SCAGP	Soja tostada	Propileno glicol		
Produção de Leite (kg)	23,4±7,2	24,8±4,6	21,7±5,6	24,4±5,8	0,067	24,9
LCG 3,5% (kg)	23,3±7,0 AB	24,9±4,9 A	21,7±5,7 B	24,6±5,3 A	0,047	24,4
LCST (kg)	21,3±6,4 AB	22,6±4,2 A	19,8±5,1 B	22,4±4,8 A	0,047	24,2
Proteína (%)	3,1±0,2	3,0±0,2	3,1±0,2	3,0±0,2	0,98	6,5
Gordura (%)	3,5±0,4	3,5±0,4	3,5±0,4	3,6±0,5	0,98	11,9
Lactose (%)	4,5±0,2 B	4,5±0,2 B	4,5±0,2 B	4,6±0,2 A	0,01	4,1
Sólidos Totais (%)	12,0±0,6	12,0±0,5	12,0±0,6	12,0±0,5	0,98	4,4

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

*LCG 3,5%: leite corrigido para 3,5% de gordura.

**LCST: leite corrigido para sólidos totais.

P – Valor de probabilidade - ANOVA

As diferenças observadas entre o grupo soja tostada e os grupos SCAGP e propileno glicol podem estar relacionadas ao consumo de matéria seca no pós parto (Tabela 7).

Embora, os SCAGP e a soja tostada sejam considerados fontes de gorduras

inertes ou potencialmente inertes no rúmen, respectivamente, e por apresentarem perfis de ácidos graxos similares, uma vez que são produtos compostos à base de soja (Tabela 9), os dois grupos tiveram respostas produtivas diferentes (LCG 3,5% e LCST P <0,05).

Tabela 9. Perfil de ácidos graxos dos aditivos SCAGP e soja tostada

Fonte Lipídica	Ácidos Graxos %						
	C14:0 Mirístico	C16:0 Palmitico	C16:1 Palmitico-oleico	C18:0 Estearico	C18:1 Oléico	C18:2 Linoléico	C18:3 Linolénico
Soja Grão tostada	<1	12	<1	4	24	52	8
Megalac – E® ¹	*	16	*	5	32,3	40/42	3

Fonte: Adaptado de Staples et al., 2007; Mandebvu et al., 2003; Mohamed et al., 1998

*Informação não disponível.

¹ Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (ARM & HAMMER. QGN).

Esta diferença pode ter sido causada pela forma com que a soja tostada foi fornecida, uma vez ao dia e separada da dieta. Esta forma de fornecimento pode ter interferido negativamente nos processos de fermentação ruminal uma vez que os ácidos graxos poliinsaturados podem ter sido liberados rapidamente no rúmen, afetando a microbiota e interferindo nos processos de degradabilidade da fibra e taxa de passagem que levariam a menor consumo de alimentos e menor aporte de substratos para produção de leite. Jenkins e McGuire (2006) descrevem a proteção conferida às sementes oleaginosas como inconsistentes e limitadas, e Allen (1988) afirma que os efeitos adversos dos ácidos graxos insaturados poderiam levar à diminuição no consumo, mobilização de reservas e diminuição da concentração plasmática de glicose, comprometendo a produção de leite.

Outra possível explicação para os resultados observados seria a interação negativa entre ácidos graxos e tipo de volumoso utilizado, como relatam Pires et al. (1996). Esses autores observaram redução na solubilidade da proteína da dieta causada pela interação da utilização de silagem de milho e ácidos graxos, afetando negativamente a produção de leite.

As hipóteses apresentadas acima justificariam o menor volume de leite LCG a 3,5% e LCST observado no grupo soja tostada frente ao grupo SCAGP. No entanto, nos casos de alteração dos processos de fermentação ruminal, principalmente relacionados à presença de ácidos graxos insaturados, seriam esperados reflexos nos teores de gordura do leite, devido à interferência na síntese de novo na glândula mamária (Bauman e Griinari, 2001), o que não ocorreu neste estudo (Tabela 8). Esta ausência de alterações nos teores de gordura, no entanto, pode ter sido

mascarada em razão dos animais estarem em período de intensa mobilização de reservas corporais o que poderia estar relacionado com maior incorporação de ácidos graxos de cadeia longa pela glândula mamária.

Concordando com os resultados deste trabalho, Chouinard et al. (1998) não encontraram diferença significativa na produção de leite entre o tratamento com sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de soja, e o grupo controle.

A ausência de diferenças entre o grupo controle e propileno glicol está de acordo com o relatado por Nielsen e Ingvarlsen (2004) que, em revisão de trabalhos utilizando propileno glicol, não observaram efeito significativo, mas apenas tendência em aumento de produção de leite em relação aos grupos controle. Os autores relatam que a ausência de incremento produtivo pode estar relacionada à pequena quantidade de propileno glicol utilizada nos trabalhos, não sendo capaz de aumentar consideravelmente a ingestão energética pelo animal.

A alteração observada no teor de lactose no grupo propileno glicol, em vacas no início da lactação, também foi relatada por Nielsen e Ingvarlsen (2004) e Butler et al. (2006). Outros estudos, no entanto, não observaram o efeito do propileno glicol nos teores de lactose do leite (Studer et al., 1993; Hoedemaker et al., 2004; Moallen et al., 2007). De acordo com Sutton (1989), as mudanças

observadas nos teores de lactose são pequenas e inconsistentes e em alguns casos, alcançam significância estatística, devido ao baixo coeficiente de variação da lactose.

4.3. Escore de condição corporal (ECC) e peso corporal

Na tabela 10 são apresentados os resultados da avaliação de ECC e peso vivo. Não houve efeito do grupo e da interação entre grupo e dia experimental sobre ECC e peso ($P > 0,05$). O maior valor de ECC e peso vivo, para todos os grupos, foi observado no dia do parto ($P < 0,05$) (Figura 9 e 10), e estes foram diminuindo gradativamente no decorrer do período experimental. Estes resultados estão de acordo com Pickett et al. (2003) que não observaram efeito da adição de gorduras ou propileno glicol, durante o período de transição, no ECC e peso corporal.

Segundo Domeq et al. (1997), a perda de 0,75 pontos na escala de ECC permite aos animais a probabilidade de 53% de concepção na primeira inseminação artificial, enquanto vacas perdendo mais de um ponto, no mesmo período, a probabilidade de concepção é de 17%. Neste experimento, todos os grupos apresentaram perdas de ECC menores do que 0,5 entre o começo e o final do experimento, sendo que a perda mais alta foi registrada no grupo controle, que foi de 0,32 pontos.

Tabela 10. Efeito médio geral e desvio padrão do peso e escore de condição corporal (ECC) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição

Variável	Dias							Contrastes		
	Parto	7	14	21	28	35	42	Grupo	Dia	Grupo x dia
ECC	3,3 a	3,2 ab	3,0 bc	3,0 bc	2,3 c	3,0 bc	3,0 bc	----	----	----
Peso Vivo	504,2± 37,4 a	492,8±40,2 b	467,2± 35,3 b	471,2 ± 35,2 b	467,2 ± 30,3 b	462,2 ± 32,9 b	464,7 ± 30,0 b	NS	<0,05	NS

ECC: Teste de Friedman (P<0,05). Peso: Teste de Scott Knott (P<0,05). Contrastes: ANOVA

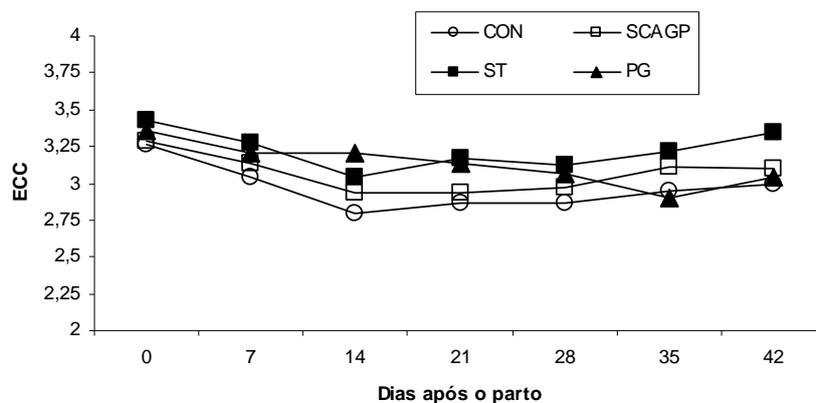


Figura 9. Variação no escore de condição corporal (ECC) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição. Controle (CON), Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (SCAGP), soja tostada (ST), propileno glicol (PG)

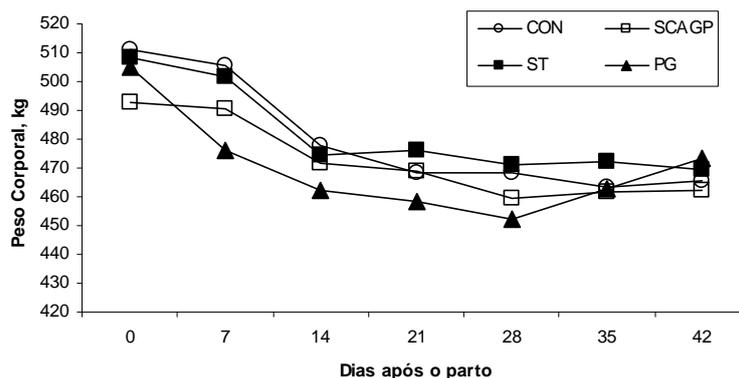


Figura 10. Variação no peso corporal de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição. Controle (CON), Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (SCAGP), soja tostada (ST), propileno glicol (PG)

4.4. Perfil metabólico e hormonal

As tabelas 11 e 12 apresentam as concentrações plasmáticas de AGNE antes e três horas após a alimentação. A concentração de AGNE na corrente circulatória reflete a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo e a utilização pelos tecidos e glândula mamária. As diferentes concentrações observadas antes e após a alimentação refletem

diferenças na mobilização dos AGNE frente à disponibilidade de energia após o fornecimento da dieta. O grupo propileno glicol apresentou menor valor de AGNE no dia do parto, antes da primeira alimentação do dia. No dia 14 pós-parto os grupos soja tostada e SCAGP apresentaram as menores concentrações de AGNE ($P < 0,05$) (Tabela 11).

Tabela 11. Efeito médio geral e desvio padrão das concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (mmol/l) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição, antes da primeira alimentação do dia nos diferentes grupos e dias de avaliação

Grupos	Dias					
	-10	-5	Parto	7	14	21
Controle	0,29±0,16 Ab	0,40±0,14 Aa	0,55±0,28 Aa	0,51±0,21 Aa	0,36±0,19 Ab	0,22±0,14 Ab
SCAGP*	0,31±0,09 Ab	0,35±0,17 Ab	0,51±0,17 Aa	0,29±0,17 Ab	0,24±0,10 Bb	0,16±0,09 Ab
Soja Tostada	0,23±0,18 Ab	0,32±0,18 Aa	0,45±0,28 Aa	0,37±0,28 Aa	0,15±0,12 Bb	0,17±0,09 Ab
Propileno Glicol	0,14±0,06 Ab	0,20±0,12 Ab	0,18±0,11 Bb	0,36±0,21 Aa	0,32±0,14 Aa	0,31±0,08 Aa

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$), CV 46,50%

*Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados.

As concentrações de AGNE três horas após a primeira alimentação (Tabela 12) foram maiores no grupo controle, durante toda fase experimental ($P < 0,05$). Entre os dias avaliados, a maior concentração de AGNE ocorreu no dia do parto e no sétimo dia pós- parto com redução nos valores nos outros dias avaliados ($P < 0,05$). Não houve efeito da interação grupo dia (Tabela 12) (Figura 11). No grupo propileno glicol era esperada menor mobilização de AGNE, já que é um aditivo gliconeogênico, o que não ocorreu, indicando que a utilização do produto não foi capaz de reduzir a mobilização corporal a favor da glândula mamária. Os resultados obtidos pelos vários experimentos com propileno glicol, quanto às alterações na concentração plasmática de AGNE, são controversos, existindo relatos de queda significativa (Studer et al., 1993; Cozzi et al., 1996; Miyoshi et al., 2001; Shingfield et al., 2002; Fonseca et al., 2003; Pickett et al., 2003; Juchem et al.,

2004) ou de manutenção de sua concentração (Grummer et al., 1994; Formigoni et al., 1996; Christensen et al., 1997). Esta variedade de resultados pode estar relacionada com a forma de fornecimento do propileno glicol bem como com a quantidade fornecida do produto e o estágio da lactação no qual os trabalhos foram realizados.

Os resultados observados para os grupos SCAGP e soja tostada não estão de acordo com outros estudos, nos quais foi utilizada a suplementação com gordura. Nesses trabalhos foram observados aumentos nas concentrações de AGNE (Grum et al., 1996; Salado et al., 2004; Van Knegsel et al., 2007). No entanto, neste trabalho, todas as fontes energéticas conseguiram reduzir de maneira significativa as concentrações de AGNE quando comparados com o grupo controle, indicando que os aditivos utilizados auxiliaram na melhora do balanço energético.

Tabela 12. Efeito médio geral e desvio padrão das concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (mmol/l) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição, três horas após a primeira alimentação do dia nos diferentes grupos e dias de avaliação

Grupo/Item	Dias									Médias
	-10	-5	Parto	7	14	21	28	35	42	
AGNE (mmol/l)										
Controle	0,20±0,10	0,20±0,06	0,47±0,16	0,38±0,21	0,25±0,16	0,20±0,15	0,18±0,13	0,20±0,16	0,18±0,14	0,24±0,16 A
SCAGP*	0,15±0,02	0,18±0,07	0,61±0,14	0,20±0,11	0,09±0,03	0,08±0,03	0,10±0,05	0,10±0,05	0,07±0,05	0,14±0,12 B
Soja Tostada	0,10±0,05	0,19±0,20	0,51±0,42	0,30±0,22	0,16±0,06	0,11±0,02	0,14±0,09	0,13±0,06	0,12±0,09	0,18±0,18 B
Propileno Glicol	0,13±0,10	0,08±0,08	0,27±0,04	0,20±0,12	0,18±0,13	0,01±0,05	0,16±0,08	0,16±0,09	0,11±0,03	0,14±0,09 B
Médias	0,15±0,08 c	0,16±0,12 c	0,48±0,26 a	0,27±0,18 b	0,17±0,12 c	0,12±0,10 c	0,15±0,09 c	0,15±0,10 c	0,12±0,09 c	

Médias seguidas de letras distintas, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05), CV 60,09%.

*Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados

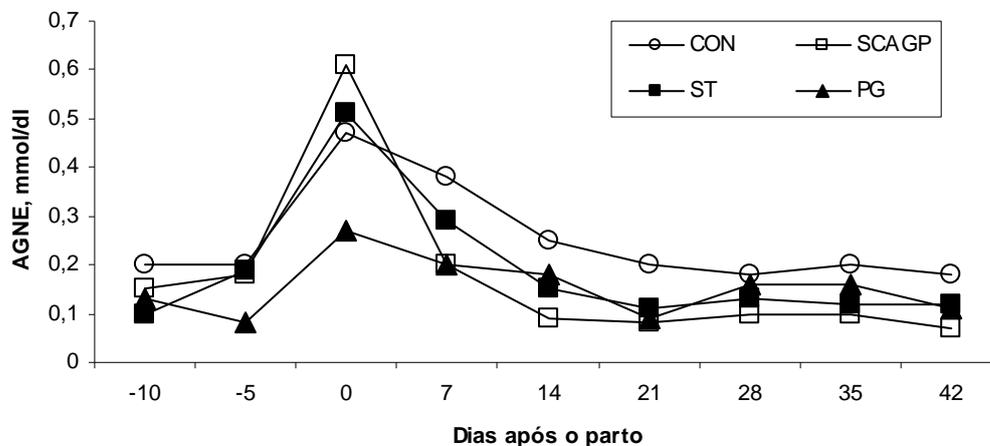


Figura 11. Concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (mmol/l), três horas após a alimentação, de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição. Controle (CON), Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (SCAGP), soja tostada (ST), propileno glicol (PG)

As concentrações plasmáticas de glicose (mg/dl) e insulina ($\mu\text{U}/\text{mL}$), antes e três horas após a primeira alimentação do dia, são apresentadas na tabela 13. Os valores médios da concentração de glicose plasmática, antes da primeira alimentação do dia e três horas após a mesma, foram maiores para o grupo SCAGP ($P < 0,05$) (Figura 12). Nos grupos controle e soja tostada, as concentrações de glicose não diferiram entre si, sendo o grupo propileno glicol o que apresentou os menores valores. Não houve efeito ($P > 0,05$) do dia avaliado e da interação entre grupos e dias experimentais nos dois horários avaliados.

A maior concentração plasmática de glicose observada no grupo SCAGP talvez esteja associada à menor utilização de glicose pela glândula mamária como relata Staples et., 1998. Segundo esses autores a utilização dos

AGNE para síntese *de novo* de ácidos graxos seria reduzida com a utilização de gordura suplementar. Esta síntese requer NADPH, os quais são obtidos da oxidação da glicose pela via das pentoses fosfatadas. Desta forma, a menor demanda por glicose pela glândula mamária para a síntese de triglicérides permite maior disponibilidade de glicose para ser utilizada por outros tecidos para seu metabolismo energético. Assim, a maior disponibilidade de glicose, como foi observada neste experimento no grupo SCAGP, poderia estar associada com efeitos de sinalização metabólica para outros órgãos, como por exemplo, sinalização do eixo hipotálamo – hipofisário - ovariano para liberação de gonadotrofinas e posterior desenvolvimento folicular.

Tabela 13. Efeito médio geral e desvio padrão da concentração glicose plasmática (mg/dl) e de insulina (μ U/mL) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição, antes e três horas após a primeira alimentação do dia

Variável	Grupos				P	CV(%)
	Controle	SCAGP*	Soja Tostada	Propileno glicol		
Antes da primeira alimentação						
Glicose (mg/dl)	68,17 \pm 15,32 b	84,94 \pm 21,93 a	72,02 \pm 21,65 b	51,22 \pm 10,04 c	0,01	5,55
Insulina (μ U/ml)	8,50 \pm 0,97 b	12,21 \pm 5,33 a	10,80 \pm 10,51 b	6,76 \pm 5,02 c	0,01	24,09
Três horas após alimentação						
Glicose (mg/dl)	65,04 \pm 14,45 b	77,37 \pm 17,65 a	69,78 \pm 19,7 b	52,98 \pm 9,30 c	0,01	5,38
Insulina (μ U/ml)	11,51 \pm 6,14 b	16,03 \pm 8,72 a	14,53 \pm 14,9 b	9,38 \pm 5,69 c	0,01	21,74

Médias seguidas de letras distintas, nas linhas, diferem pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).

P-Valor de probabilidade - ANOVA

*Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados

A possibilidade do grupo SCAGP ter apresentado maiores valores de glicose em relação ao maior consumo não pode ser afastada, nem tão pouco confirmada, devido a impossibilidade de avaliação estatística dos dados de consumo. Quando se comparam as concentrações de glicose dos grupos SCAGP e soja tostada, as menores concentrações de glicose observadas no grupo soja tostada poderiam estar relacionadas ao tipo de fornecimento do aditivo (uma vez ao dia, separadamente da dieta total), o que poderia ter comprometido a microbiota ruminal, por algum tempo, devido a liberação rápida de AG no ambiente ruminal.

De maneira geral, estudos nas últimas décadas, avaliando o perfil metabólico de animais suplementados com gordura, demonstram efeito inconsistente da suplementação de gordura nas concentrações plasmáticas de glicose (Chilliard, 1993).

Ao contrário do observado em outros trabalhos (Studer et al., 1993; Grummer

et al., 1994; Formigoni et al., 1996; Christensen et al., 1997; Miyoshi et al., 2001; Shingfield et al., 2002; Butler et al., 2006), neste experimento, a menor concentração plasmática de glicose foi observada nos animais recebendo propileno glicol. Estes resultados não estão de acordo com os resultados esperados, uma vez que este promove maior suprimento de substrato gliconeogênico. No entanto, em outros experimentos utilizando o propileno glicol, também não foram observadas alterações nas concentrações plasmáticas de glicose (Cozzi et al., 1996; Fonseca et al., 2003; Pickett et al., 2003).

Da mesma forma que para a glicose, as concentrações plasmáticas de insulina foram maiores para o grupo SCAGP ($P < 0,05$), antes da alimentação e três horas após a mesma (Tabela 13). Os grupos soja tostada e controle tiveram o mesmo comportamento e os animais suplementados com propileno glicol apresentaram as menores concentrações de insulina ($P < 0,05$) (Figura 13).

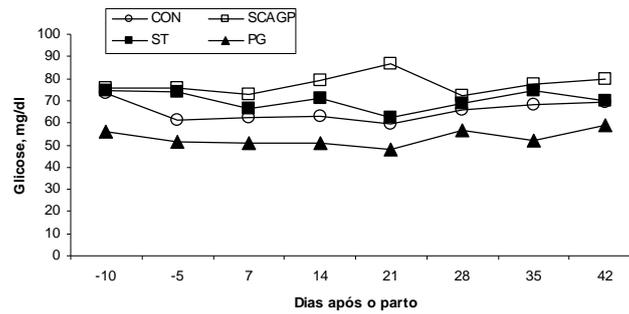


Figura 12. Concentração plasmática de glicose (mg/dl), três horas após a primeira alimentação, de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição. Controle (CON), sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (SCAGP), soja tostada (ST), propileno glicol (PG)

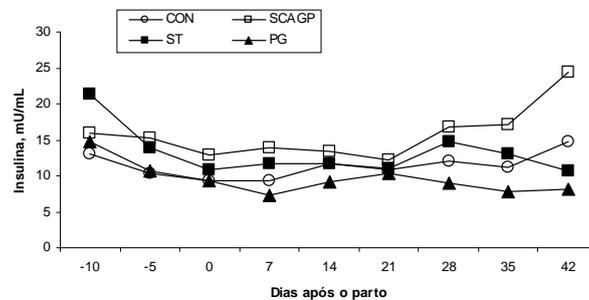


Figura 13. Concentração plasmática de insulina ($\mu\text{U/ml}$), três horas após a primeira alimentação, de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição. Controle (CON), sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (SCAGP), soja tostada (ST), propileno glicol (PG)

Segundo Staples et al. (1998), em ampla revisão sobre estudos utilizando diferentes fontes de gordura, os efeitos da suplementação com gordura sobre as concentrações plasmáticas de insulina são variados. Os mesmos autores reportam efeitos não significativos e significativos sobre a insulina. Na maioria de estudos, onde a adição de gordura teve efeito significativo sobre a insulina, foi observado diminuição nas concentrações do hormônio, e nos que observaram aumento ($P < 0,05$), como no caso do grupo SCAGP deste experimento, está associado com melhor balanço energético dos animais e, assim,

as concentrações de insulina aumentariam de maneira indireta pela adição de gordura na dieta. Pode-se sugerir que as maiores concentrações de insulina observadas no grupo SCAGP estão relacionadas à maior concentração de glicose. As menores concentrações de insulina observadas nos outros grupos experimentais poderiam estar associadas com falhas no processo de adaptação dos animais para atender os maiores requerimentos energéticos, durante o período de transição, aumentando o risco de distúrbios metabólicos e reprodutivos (Jorritsma et al., 2003).

Os resultados são conflitantes no que se refere às respostas observadas com o propileno glicol, quando comparado com outros trabalhos científicos. A não observação de efeitos significativos da utilização deste aditivo gliconeogênico sobre o perfil metabólico de glicose e insulina dos animais, no período de transição, pode estar relacionada a vários fatores, tais como a dose e o tipo de fornecimento dos aditivos, ao longo do período de transição. Normalmente, os experimentos que conseguem apresentar variações significativas nos metabólitos plasmáticos são realizados em animais fora do período de transição, estando no meio da lactação ou não lactantes (Grummer et al., 1994; Cozzi et al., 1996; Christensen et al., 1997; Shingfield et al., 2002). Outro fator que poderia ter influenciado as respostas observadas com a utilização de propileno glicol, neste experimento, foi o tipo de fornecimento do aditivo. Assim, Cozzi et al. (1996) e Singfield et al. (2002) forneceram o propileno glicol adicionado à ração, enquanto Christensen et al. (1997) e Miyoshi et al. (2001) forneceram via sonda oral. Os dois primeiros experimentos apresentaram efeitos menos pronunciados da utilização de propileno glicol sobre o perfil metabólico e hormonal, quando comparados aos dois últimos trabalhos. No presente trabalho, o fornecimento do propileno glicol foi baseado em uma metodologia que poderia ser utilizada sem promover grande demanda de mão-de-obra e de fácil utilização nas fazendas leiteiras. O fornecimento através de sonda oral é muito eficaz quando se trabalha somente nos primeiros dias pós-parto (um a três dias), mas, para sua utilização durante todo o período de transição, pode ser de difícil aplicação. Talvez a dose de propileno glicol utilizada neste experimento não tenha sido suficiente para

promover as alterações desejadas em vacas primíparas durante o período de transição, sendo necessárias maiores quantidades de propileno glicol. Grummer et al. (1994) avaliaram a administração de propileno glicol, por via oral, em novilhas holandesas sob restrição alimentar. Foi encontrado efeito linear das doses de propileno glicol nos níveis plasmáticos de insulina. A maior resposta por mililitros de propileno glicol ocorreu quando se utilizou 296 mL de propileno glicol, embora apenas a dose de 887 mL tenha sido eficiente para restaurar o perfil metabólico pré-restrição alimentar. No entanto, resultados semelhantes não foram obtidos quando se trabalhou com vacas leiteiras no início de lactação (Sauer et al., 1973).

As concentrações plasmáticas de IGF-I (ng/mL), nos diferentes grupos, estão apresentadas na tabela 14 e figura 14. Foi observado efeito do grupo e dia de avaliação, não sendo observado efeito da interação grupo x dia. Observa-se que a concentração de IGF-I, independente do grupo experimental, começou a diminuir no dia do parto atingindo seu ponto mínimo no sétimo dia após o parto, com as concentrações se elevando a partir do 14^o dia após o parto. Este perfil está de acordo com o reportado por Vazquez- Añon (1994) e a sua mudança é indicativa de adaptação homeorrética da vaca leiteira durante o final da gestação e início da lactação. Neste experimento não foi analisado o hormônio do crescimento (GH), mas sabe-se que à medida em que o parto se aproxima, aumentam as concentrações de GH. Este hormônio participa ativamente da partição de nutrientes do tecido adiposo para o feto e glândula mamária, e reduzem os receptores hepáticos de GH (GHR) próximo da partição. A redução da ligação GH ao seu receptor provoca diminuição nas concentrações de IGF-I e a ausência

do mecanismo de feedback negativo sobre hipotálamo e pituitária controlando a secreção de GH. Desta forma, o GH se liga a seus receptores no tecido adiposo provocando mobilização de reservas corporais. É importante ressaltar que o sinal que inicia a mobilização de tecido adiposo (diminuição de GHR), ocorre paralelamente ao processo de lactogênese e antes do pico de produção de leite (Lucy, 2008b). Durante este período as concentrações de IGF-I ficam baixas, como observado neste experimento, e as concentrações de GH altas, ocasionando o fenômeno fisiológico conhecido como desacoplamento do eixo GH-IGF-I. O reacoplamento ocorre algumas semanas após o parto, no momento em que as concentrações de insulina e glicose retornam aos seus valores normais, quando da melhora no balanço energético do animal (Lucy, 2008b). Alguns estudos (Funston et al., 1996; Butler et al., 2006) relacionam as concentrações de IGF-I ao balanço energético do animal, o que significa que animais com maior concentração de IGF-I apresentariam melhor balanço energético. Butler et al. (2003), fizeram infusões de insulina em vacas leiteiras no período pós-parto imediato e observaram aumento significativo nas concentrações hepáticas

de GHR. O anterior sugere que o re-acoplamento do eixo pode ser um processo dependente da insulina.

O grupo SCAGP apresentou perfil hormonal e metabólico com concentrações de insulina e glicose que poderiam estar relacionadas ao re-acoplamento do eixo GH – IGF-I. A interação da insulina, glicose e o eixo GH – IGF-I talvez altere a resposta coordenada às mudanças na demanda energética e à disponibilidade de nutrientes, durante o início da lactação, também a outros tecidos.

O grupo soja tostada, assim como grupo SCAGP, apresentou as maiores concentrações de IGF-I seguido do grupo propileno glicol e controle ($P < 0,05$) (Tabela 14). A maior concentração de IGF-I no grupo soja tostada pode estar relacionada com as menores concentrações de AGNE observadas três horas após a primeira alimentação e à menor produção LCG para 3,5%, sinalizando, neste grupo, menor intensidade do BEN que nos grupos controle e propileno glicol.

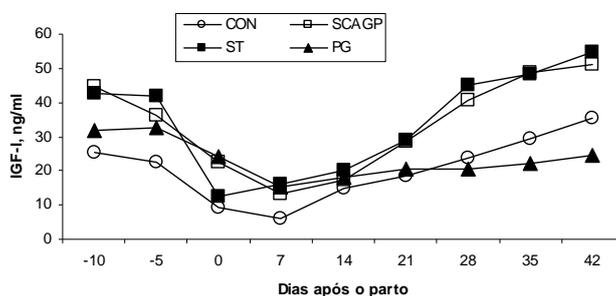


Figura 14. Concentração plasmática de IGF-I (ng/mL) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição. Controle (CON), sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (SCAGP), soja tostada (ST), propileno glicol (PG).

Tabela 14. Efeito médio geral e desvio padrão das concentrações plasmáticas de IGF-I (ng/mL) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição, três horas após a primeira alimentação do dia, nos diferentes grupos e dias de avaliação

Grupo/Item	Dias									Médias
	-10	-5	Parto	7	14	21	28	35	42	
IGF-I (ng/mL)										
Controle	25,49±20,63	22,51±12,37	9,29±4,54	6,16±1,84	14,88±9,06	18,72±15,80	23,60±18,70	29,40±27,16	35,32±35,53	20,61±20,17 B
SCAGP*	44,80±23,31	36,42±26,07	22,71±8,18	13,15±9,68	17,30±10,32	28,57±14,43	40,60±29,44	48,92±47,17	51,28±29,27	33,52±26,75 A
Soja Tostada	42,62±17,01	42,06±14,59	12,43±8,00	16,10±14,52	52,33±47,88	38,98±26,49	66,01±49,23	48,27±34,86	54,58±31,35	40,94±33,77 A
Propileno Glicol	31,83±22,03	32,62±19,74	24,19±16,68	15,44±12,75	18,31±11,33	20,61±12,06	20,71±11,66	22,02±9,45	24,46±10,76	23,00±14,14 B
Médias	36,40±21,17 a	33,59±19,69 a	15,69±10,16 b	12,95±11,11 c	25,70±28,74 b	26,72±18,87 a	36,53±33,22 a	37,15±33,03 a	41,05±29,42 a	

Médias seguidas de letras distintas, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05), CV 22,01%.

*Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados

4.5. Avaliação folicular ovariana

Os folículos encontrados foram classificados de acordo com o diâmetro em quatro categorias assim definidas: classe I (3 – 5 mm), classe II (6 – 9 mm), classe III (10 – 15 mm) e classe IV (> 15 mm) (Lucy et al., 1991).

De acordo com esta classificação, todos os grupos mostraram crescimento de folículos de classe I (3 – 5 mm) desde o começo da fase experimental sem mostrar diminuição significativa no decorrer dos 46 dias pós-parto, exceto para os grupos SCAGP e propileno glicol em que ocorreu diminuição no crescimento de folículos desta classe, a partir do dia 26 e 32 após o parto, respectivamente.

Os folículos de classe II tiveram comportamento similar aos folículos de classe I, sendo que no grupo soja tostada, o crescimento destes folículos começou quatro dias depois (dia 14 pós-parto), quando comparado com os outros grupos. No grupo SCAGP observou-se maior crescimento desta classe de folículos quando comparado com os outros grupos.

O crescimento de folículos de classe III (10 – 15 mm), no grupo controle, começou aos 18 dias após o parto tendo aumento entre os dias 30 e 38 pós-parto, já no grupo SCAGP, o crescimento destes folículos aconteceu do início ao final da fase experimental. Nos outros dois grupos, soja tostada e propileno glicol, o crescimento começou nos dias 36 e 24, respectivamente.

No grupo controle o crescimento de folículos de classe IV (>15 mm) iniciou a partir do dia 25, já no grupo SCAGP observa-se crescimento a partir do dia 20, e corresponderam a folículos dominantes ovulatórios. No grupo soja tostada folículos de classe IV foram visualizados a partir do dia 27. No grupo propileno glicol alguns destes folículos foram ovulatórios e outros foram folículos dominantes que ficaram persistentes.

No grupo controle foram observadas nove ovulações das quais oito apresentaram função luteal normal (concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL). No grupo SCAGP nove animais ovularam e apresentaram função luteal normal. No grupo soja tostada seis animais ovularam com concentrações de progesterona acima de 1ng/mL e no grupo propileno glicol cinco animais ovularam e destes somente dois apresentaram função luteal normal (Tabela 15).

Nas figuras 15 a 20 podem ser visualizadas as dinâmicas foliculares, volume de tecido luteal e concentrações de progesterona dos animais do grupo controle. Os mesmos dados se apresentam para o grupo SCAGP das figuras 21 a 26, para o grupo soja tostada das figuras 27 a 30 e finalmente para o grupo propileno glicol das figuras 31 a 35.

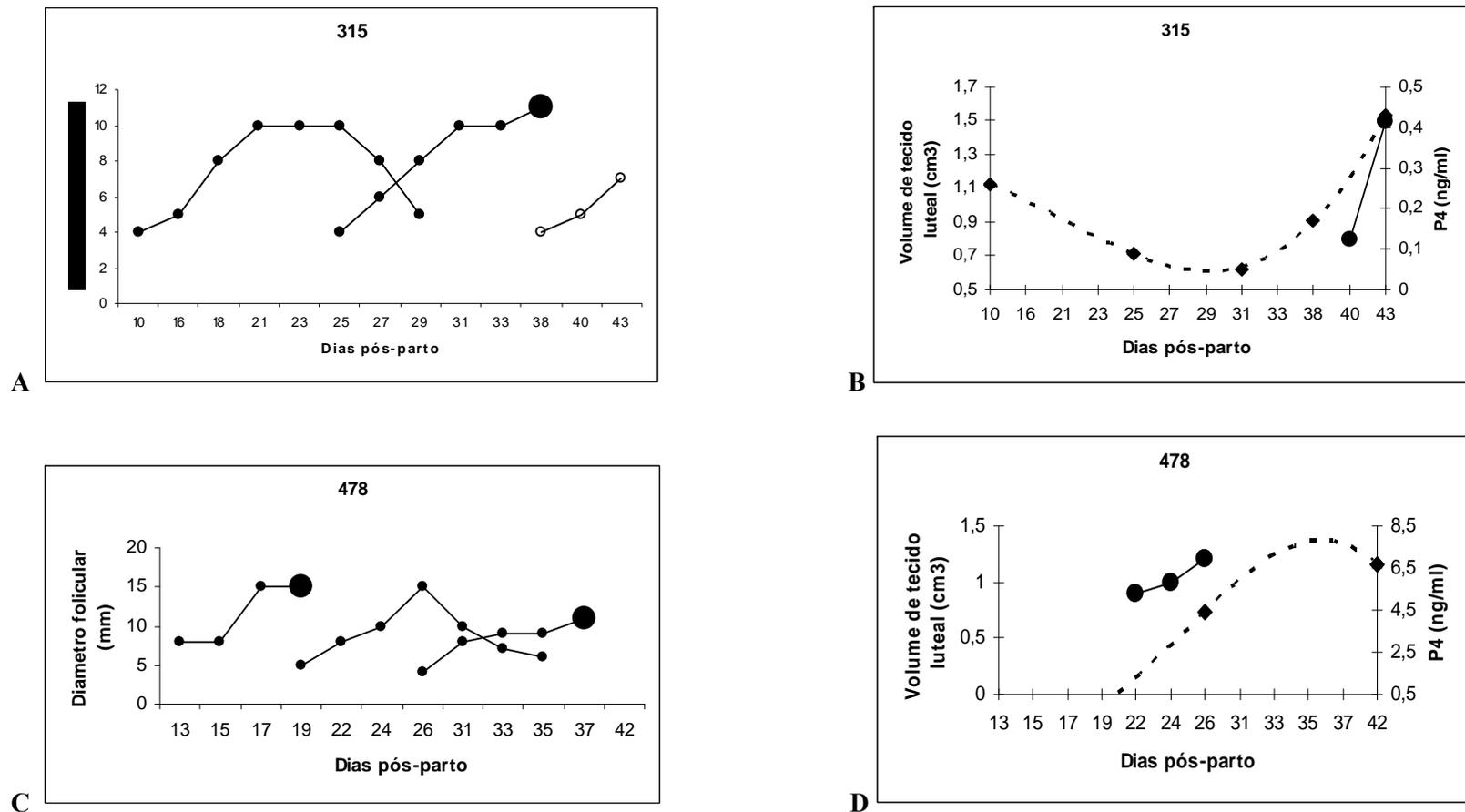


Figura 15. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo controle. ● Ovulação. A) Vaca 315 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 315 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 478 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 478 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

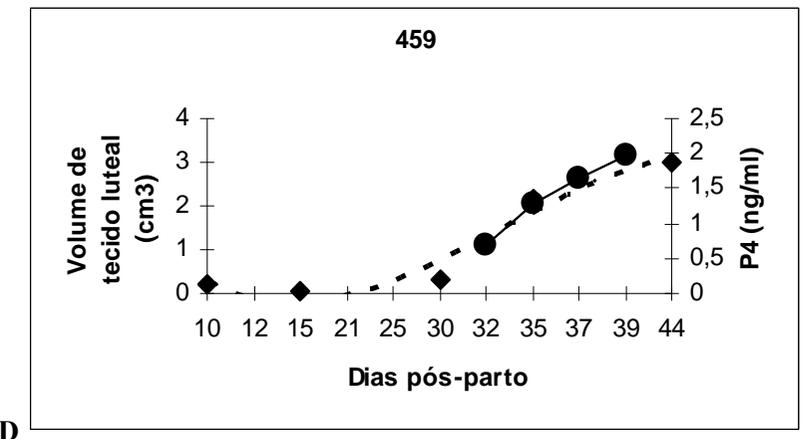
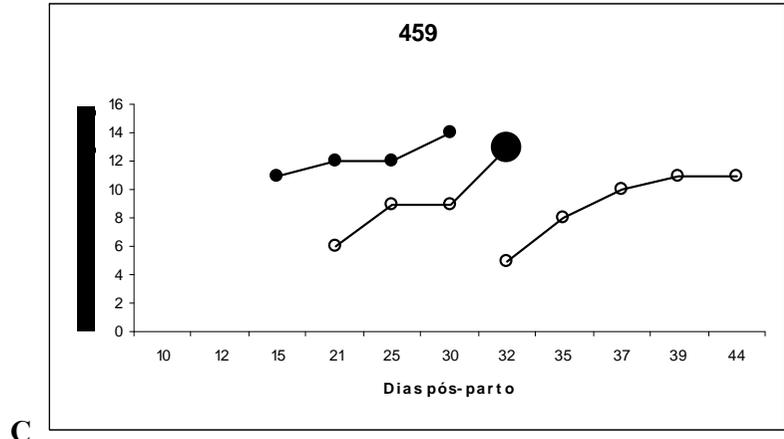
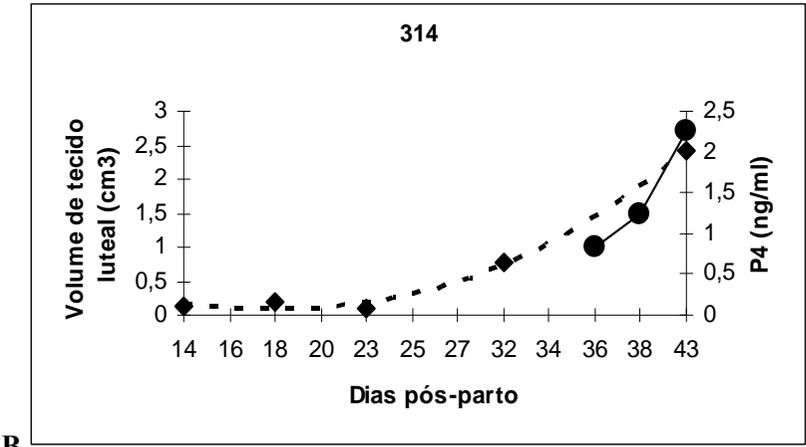
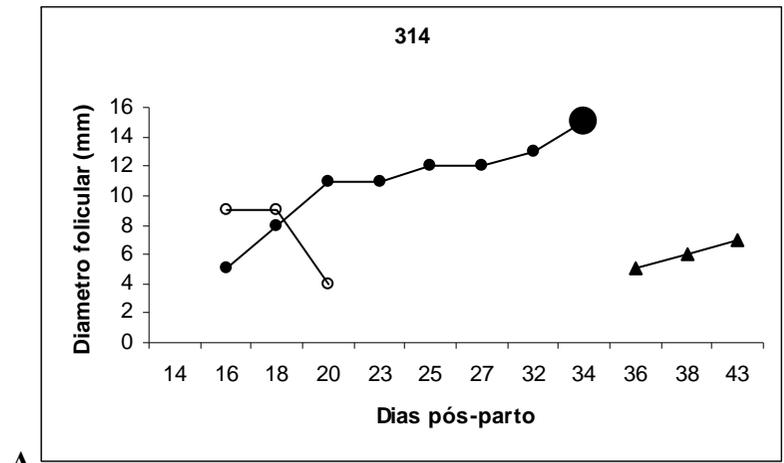


Figura 16. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo controle. ● Ovulação. A) Vaca 314 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 314 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 459 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 459 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

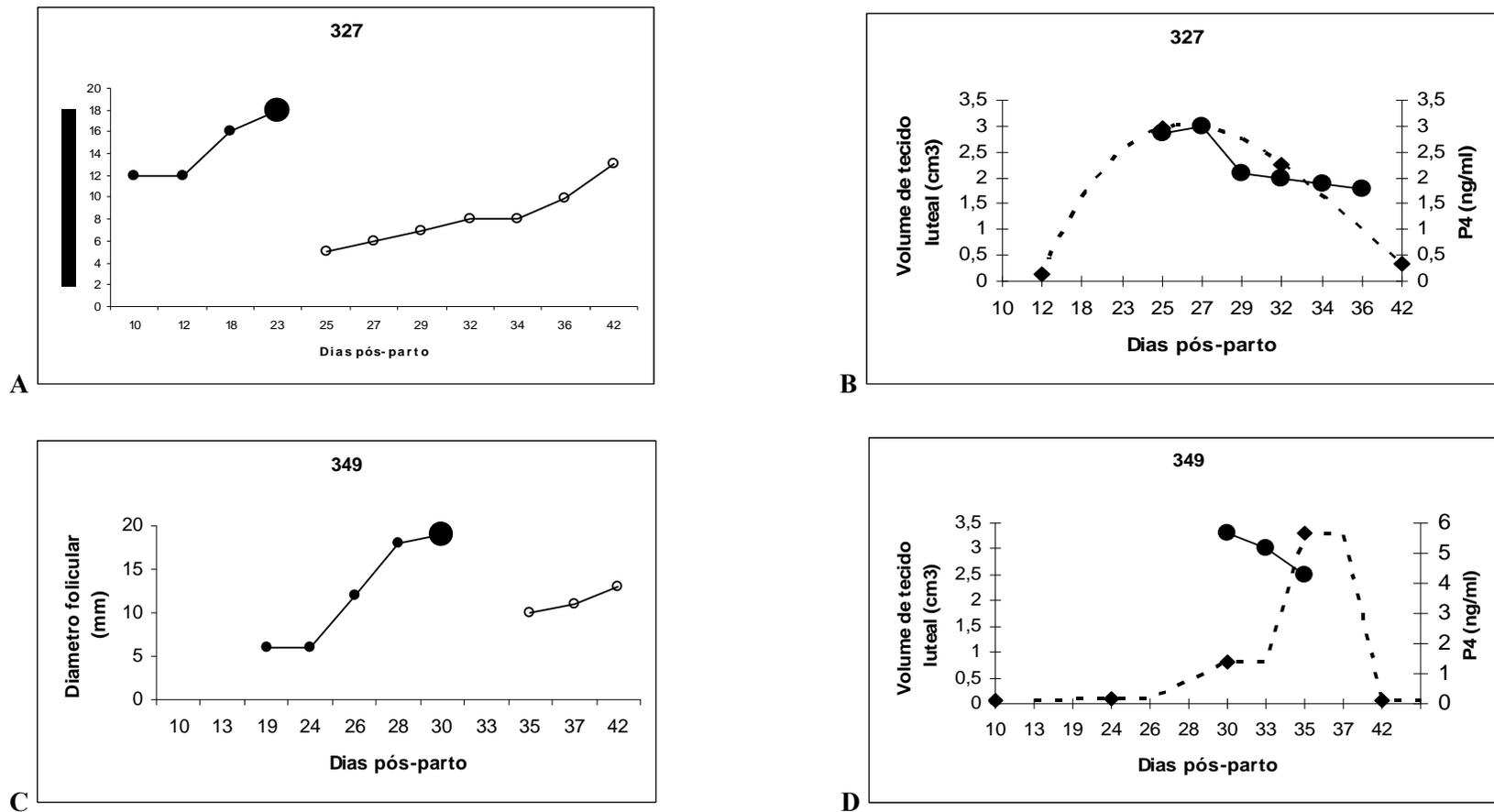
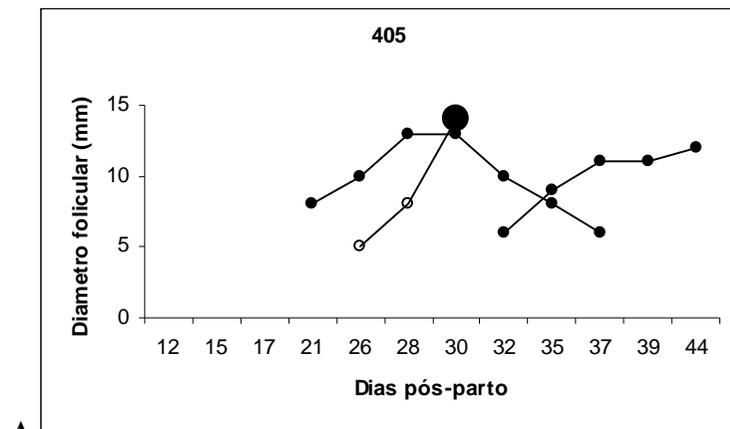
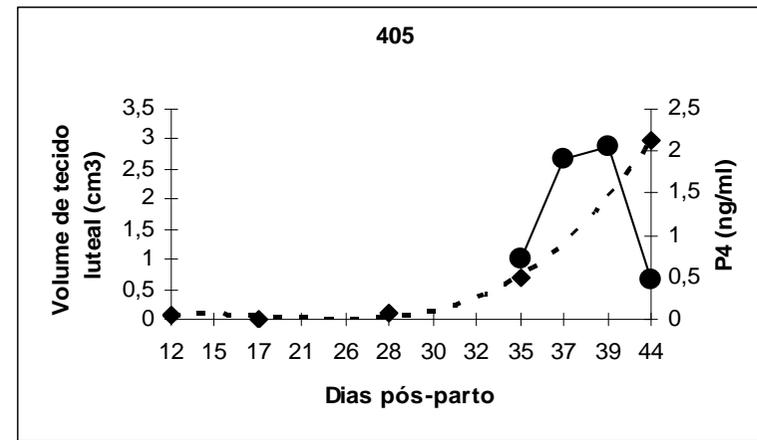


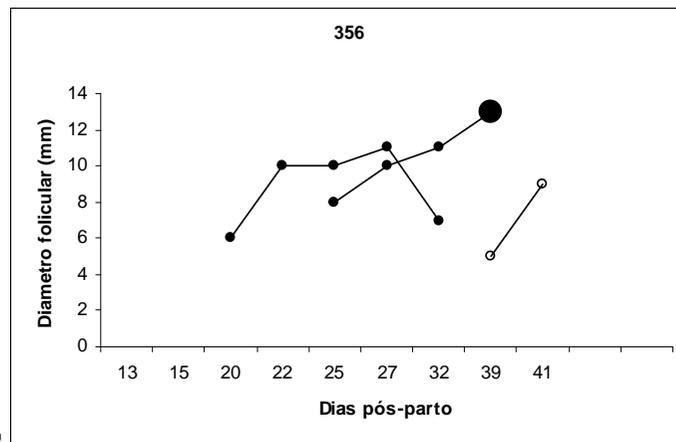
Figura 17. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo controle. ● Ovulação. A) Vaca 327 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 327 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 349 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 349 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).



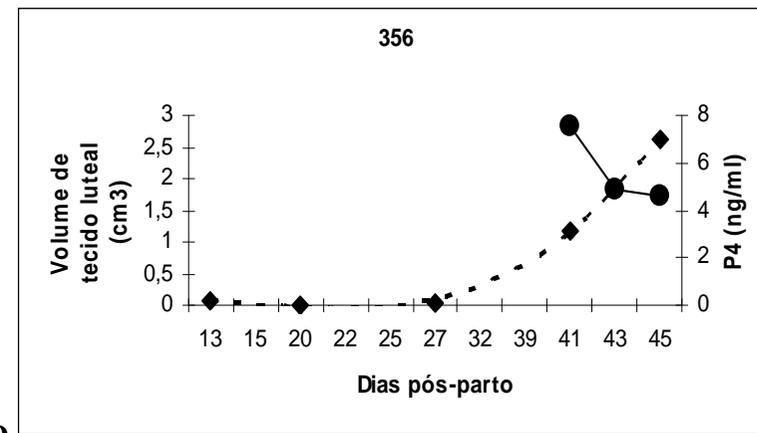
A



B



C



D

Figura 18. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo controle. ● Ovulação. A) Vaca 405 (-●- folículo dominante, ○ folículo codominante); B) Vaca 405 (-◆- Concentração de progesterona (ng/ml), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 356 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 356 (-◆- Concentração de progesterona (ng/ml), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

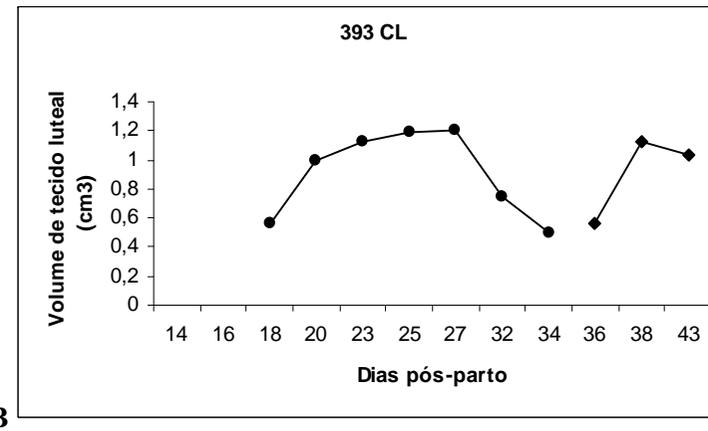
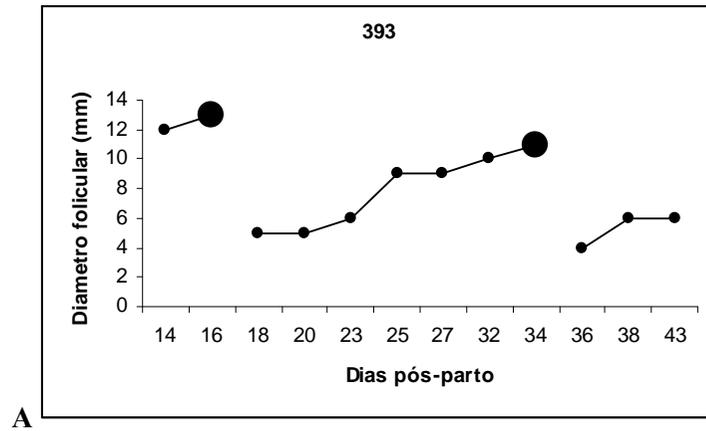


Figura 19. Dinâmica folicular e volume de tecido luteal de vacas do grupo controle. ● Ovulação. A) Vaca 393(-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 393 (-●- volume de tecido luteal (cm³))

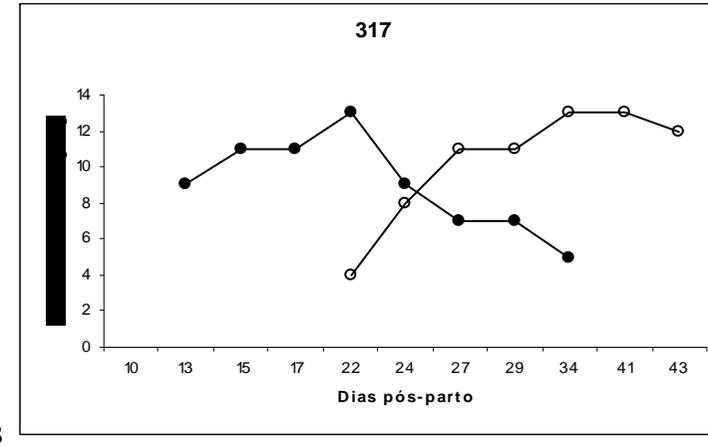
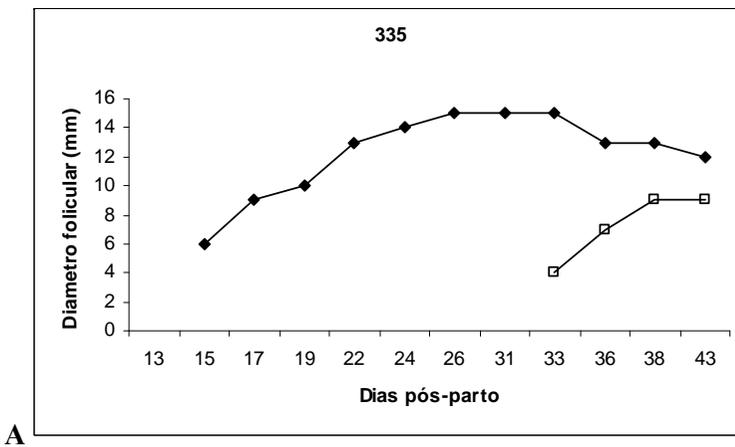


Figura 20. Dinâmica folicular de vacas do grupo controle. A) Vaca 335 (-●- folículo maior, -○- segundo folículo maior); B) Vaca 317 (-●- folículo maior, -○- Segundo folículo maior).

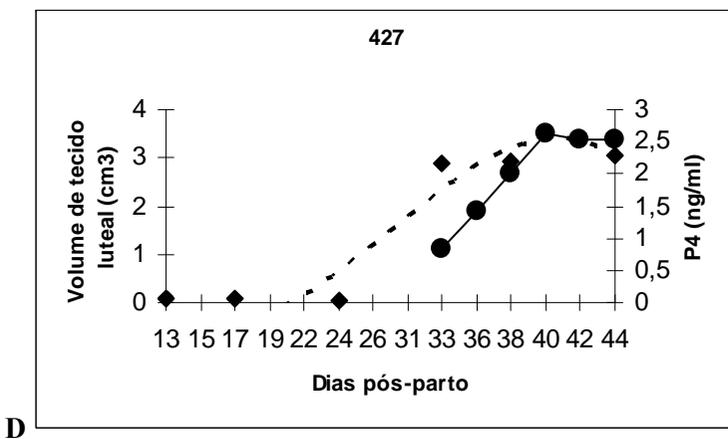
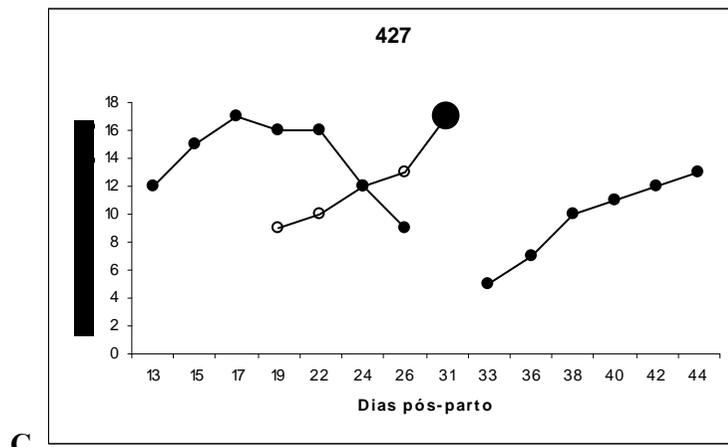
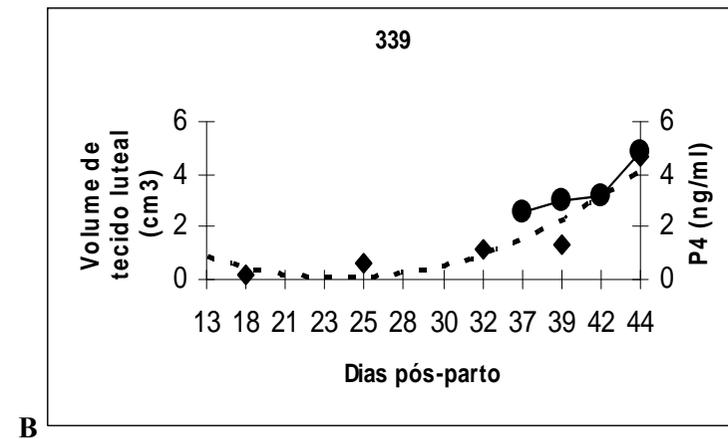
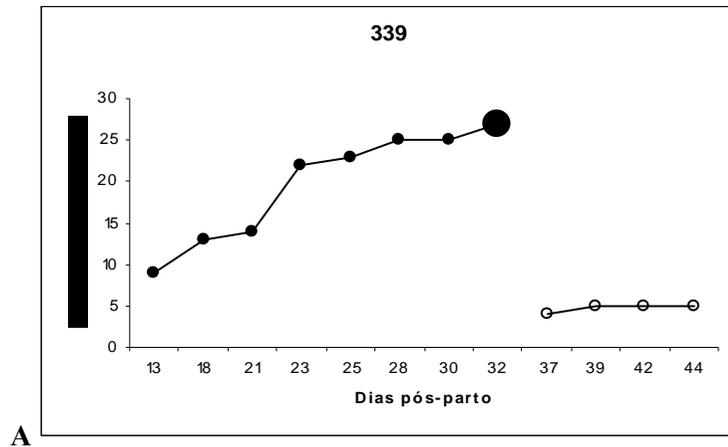
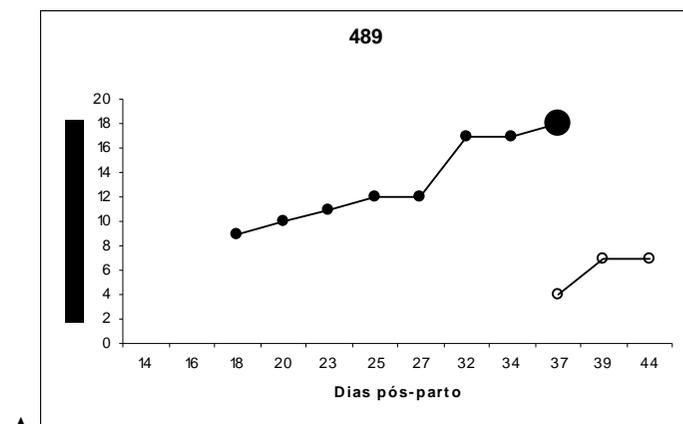
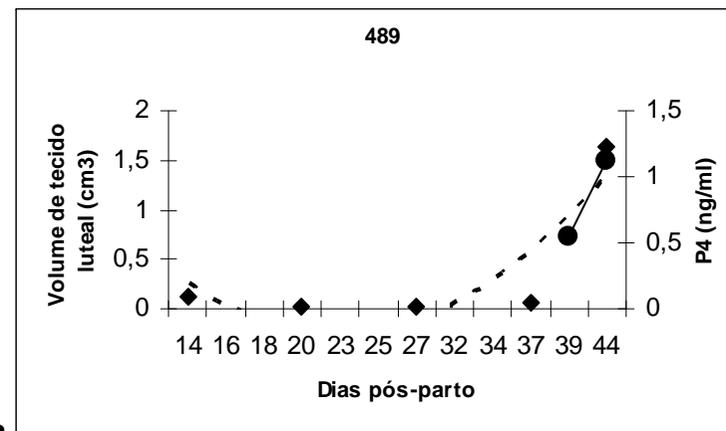


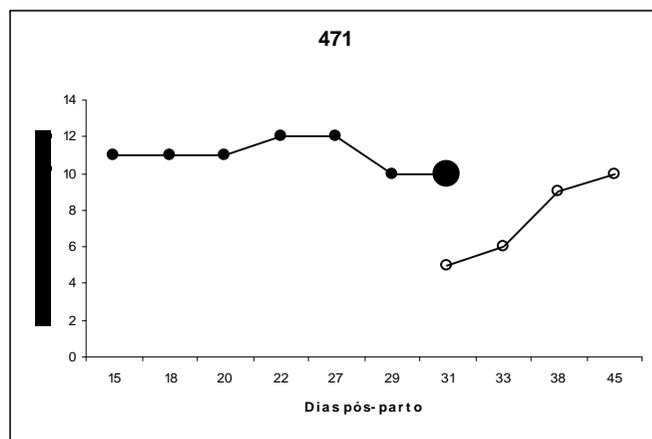
Figura 21. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo saís de cálcio de ácidos grãos poliinsaturados. ● Ovulação. A) Vaca 339 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 339 (-♦- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 427 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 427 (-♦- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).



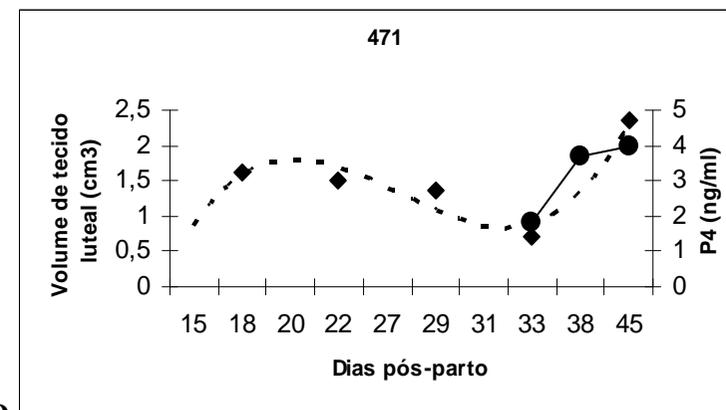
A



B



C



D

Figura 22. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo saís de cálcio de ácidos grãos poliinsaturados. ● Ovulação. A) Vaca 489 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 489 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 471 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 471 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

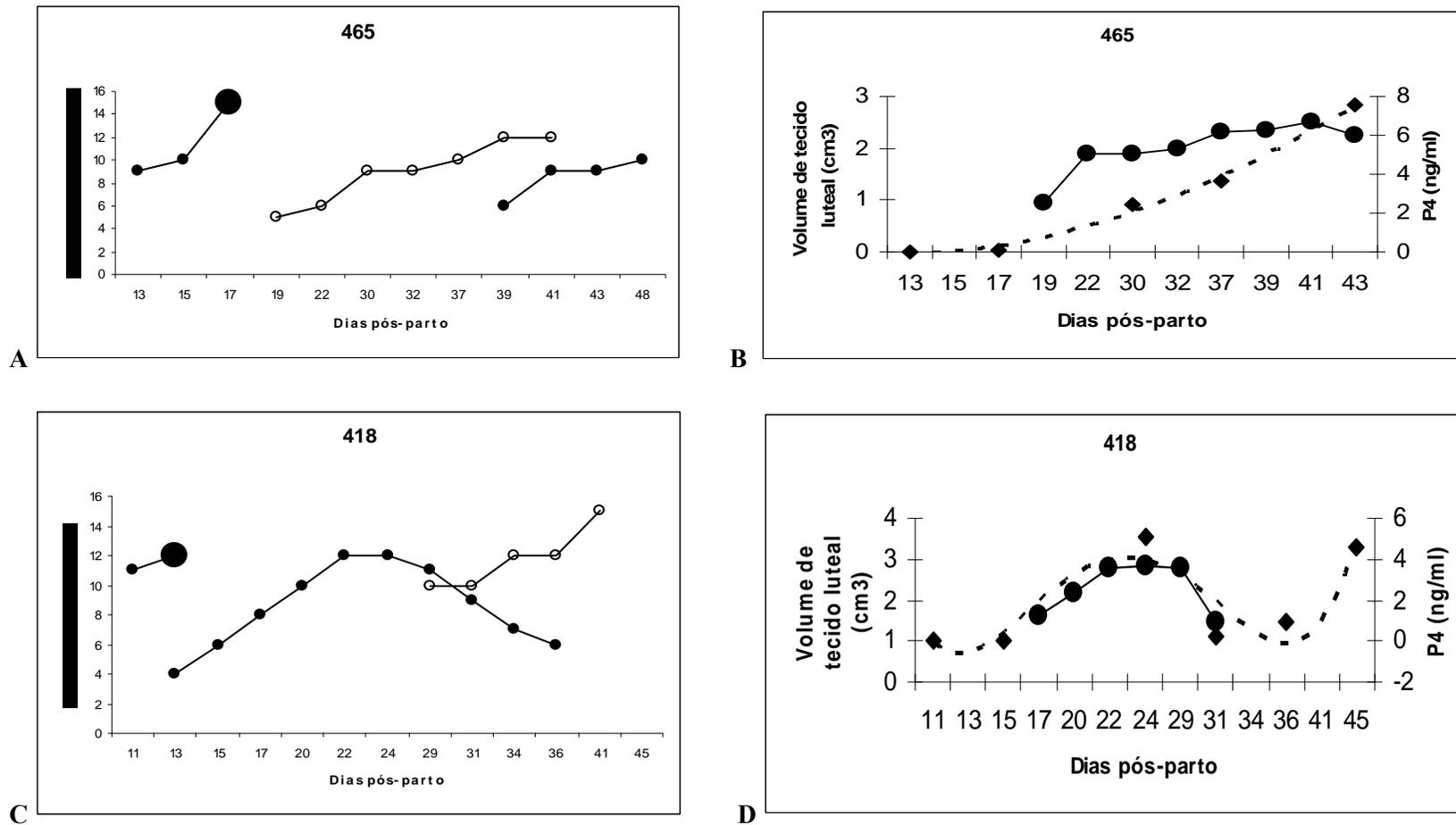


Figura 23. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos grãos poliinsaturados. ● Ovulação. A) Vaca 465 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 465 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 418 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 418 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

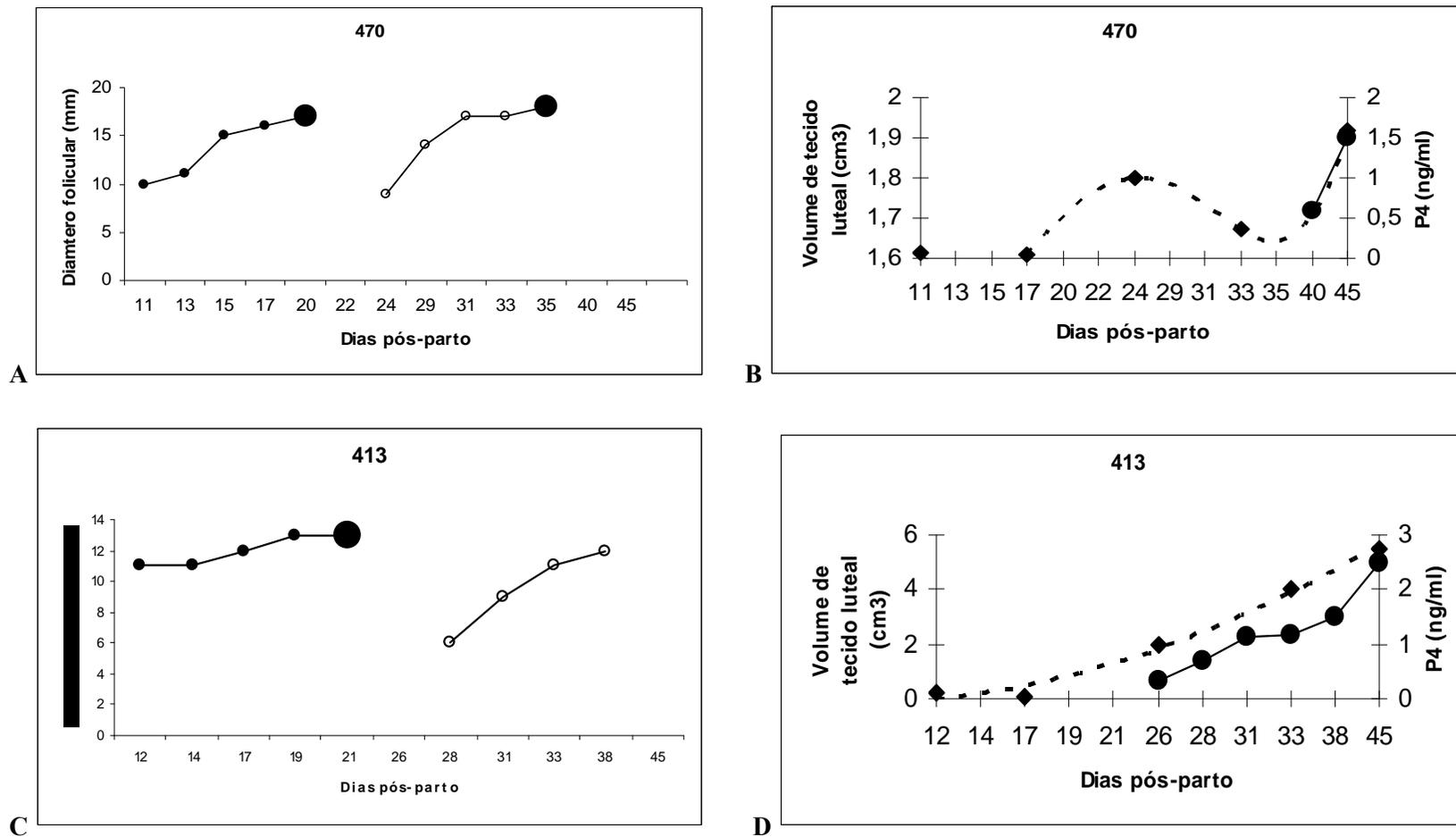


Figura 24. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo saís de cálcio de ácidos grãos poliinsaturados. ● Ovulação. A) Vaca 470 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 470 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 413 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 413 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

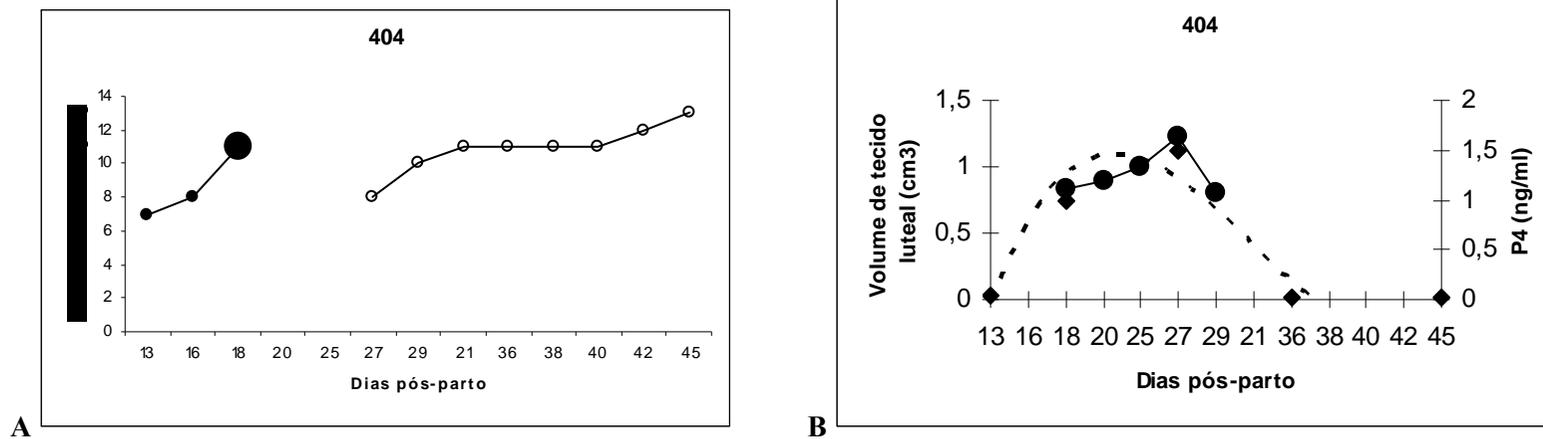


Figura 25. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos grãos poliinsaturados. ● Ovulação. A) Vaca 404 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 404 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

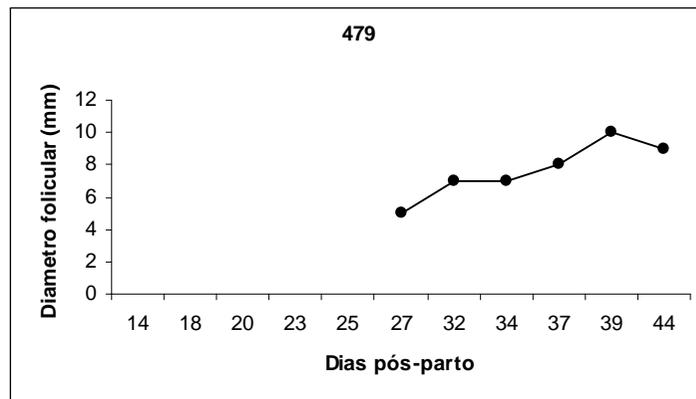


Figura 26. Dinâmica folicular de vacas do grupo sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados (-●- folículo maior).

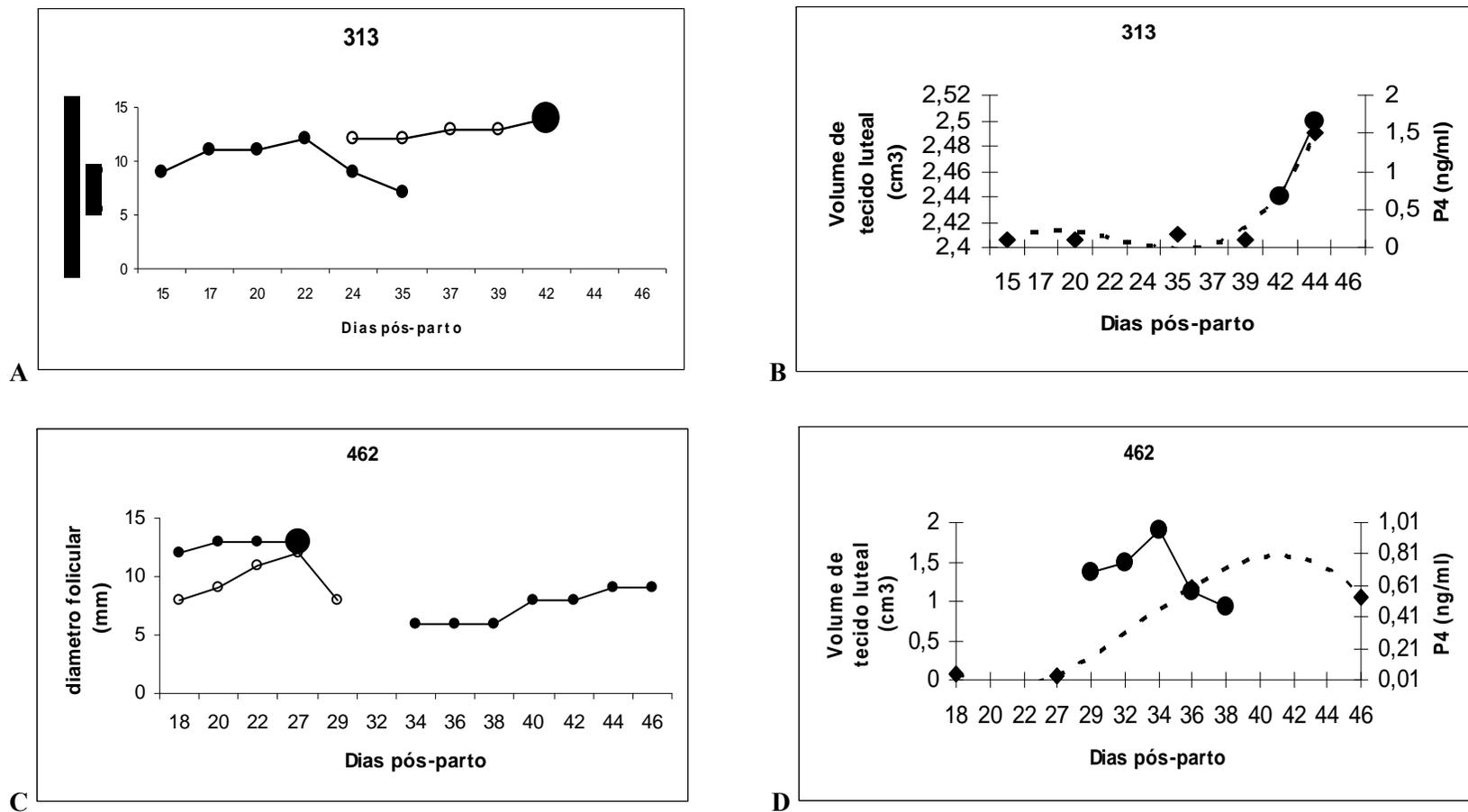
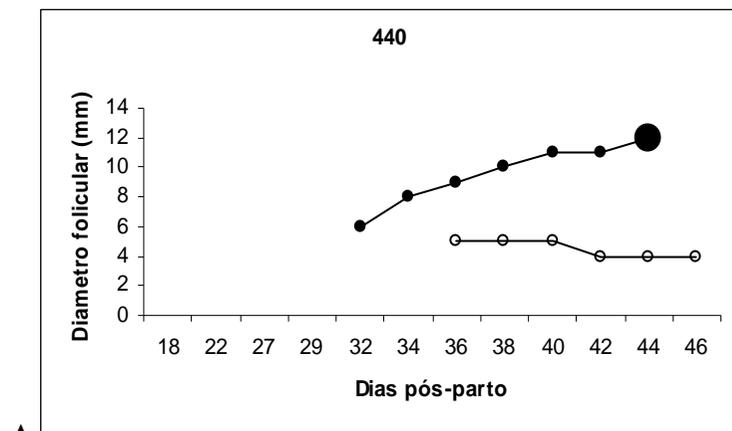
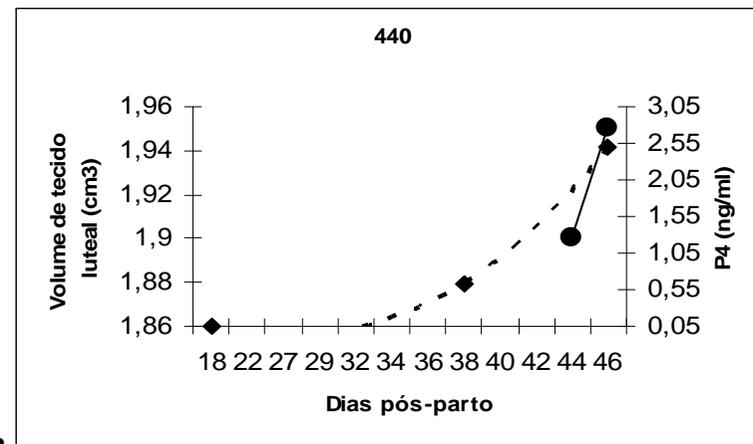


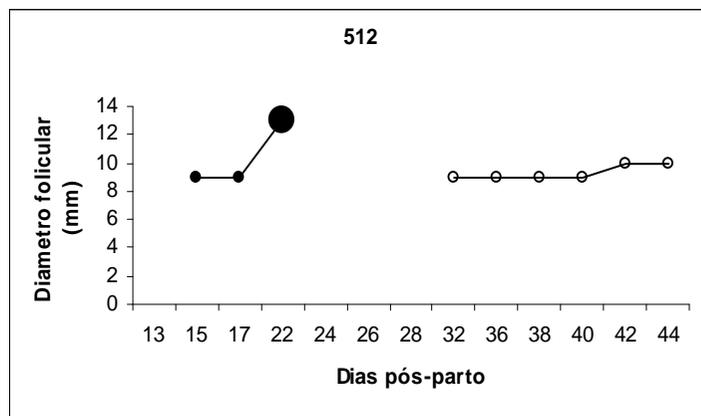
Figura 27. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo soja tostada. ● Ovulação. A) Vaca 313 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 313 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 462 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 462 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).



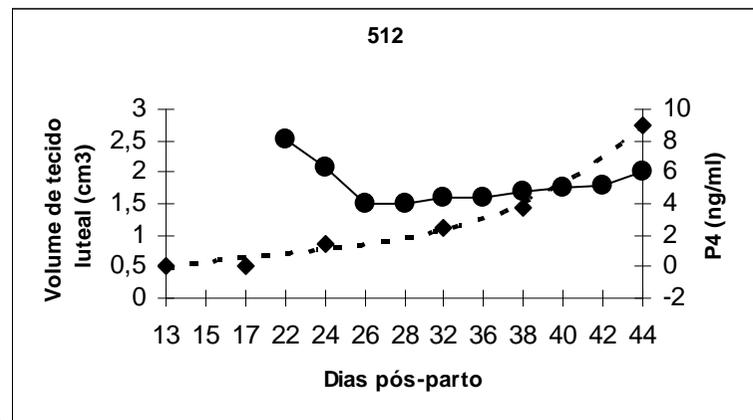
A



B



C



D

Figura 28. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo soja tostada. ● Ovulação. A) Vaca 440 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 440 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 512 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 512 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

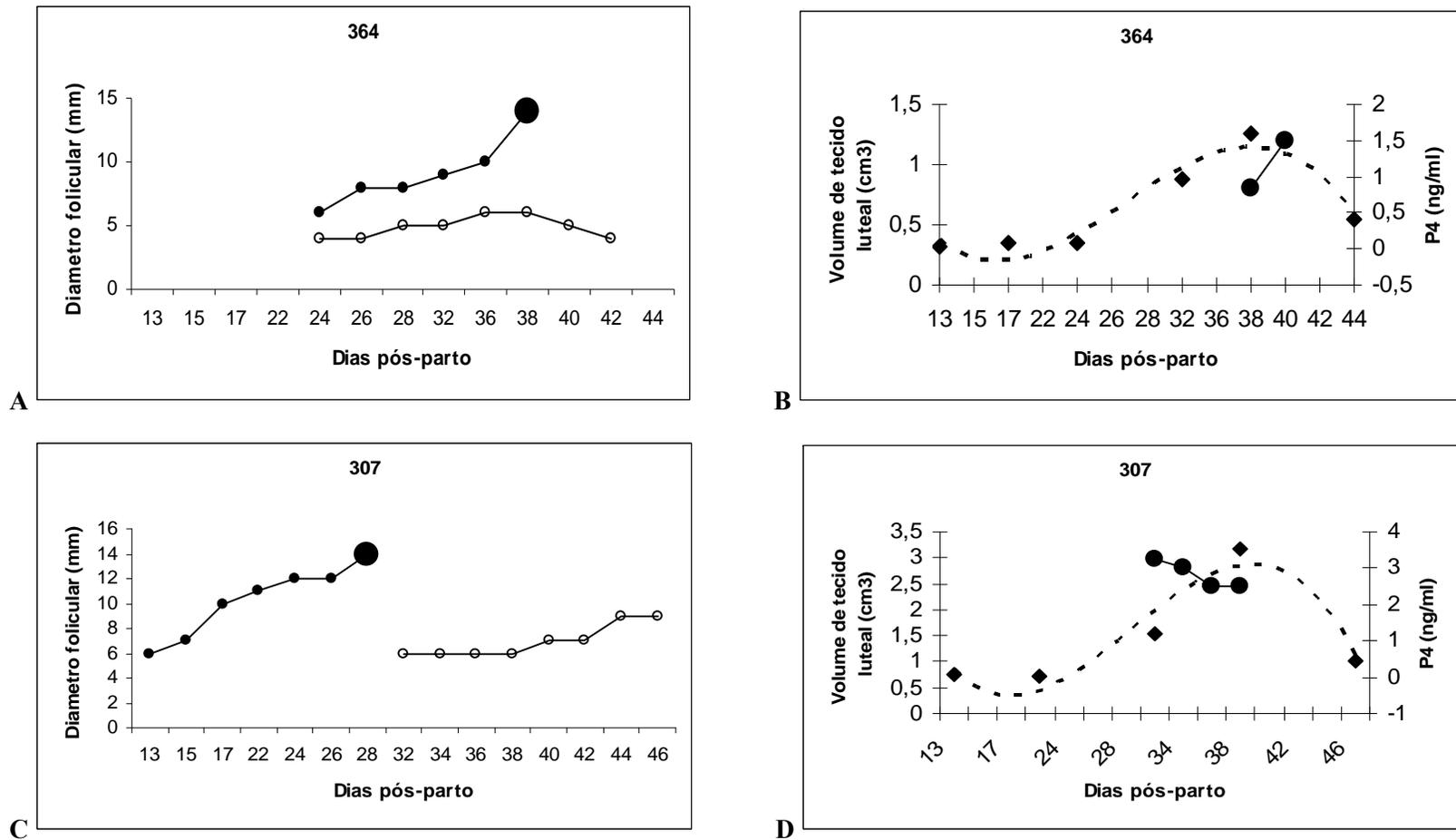


Figura 29. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo soja tostada. ● Ovulação. A) Vaca 364 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 364 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 307 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 307 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

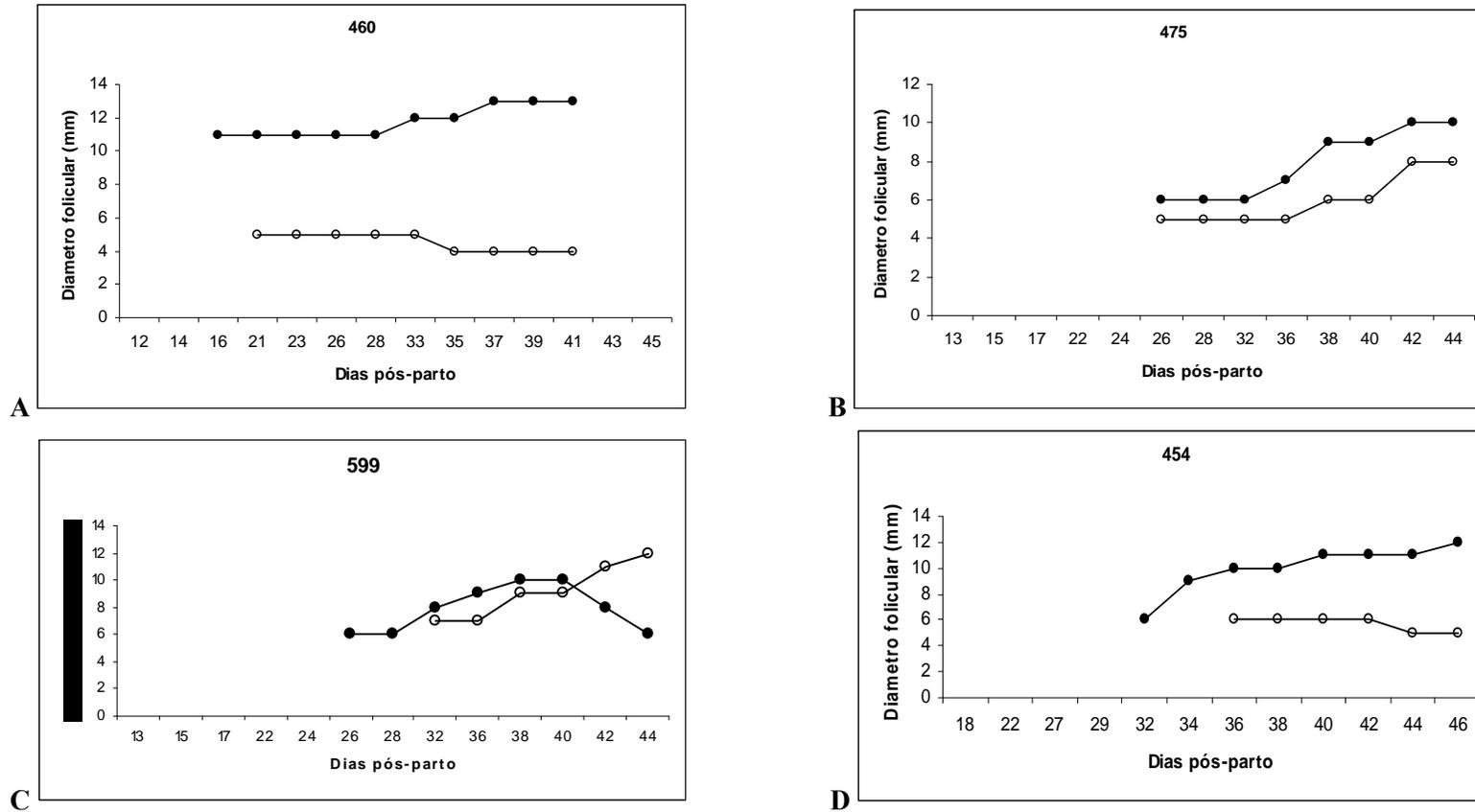


Figura 30. Dinâmica folicular de vacas do grupo soja tostada. A) Vaca 460 (-●- folículo maior, -○- folículo segundo maior); B) Vaca 475 (-●- folículo maior, -○- folículo segundo maior); C) Vaca 599 (-●- folículo maior, -○- Segundo folículo maior); D) Vaca 454 (-●- folículo maior, -○- segundo folículo maior).

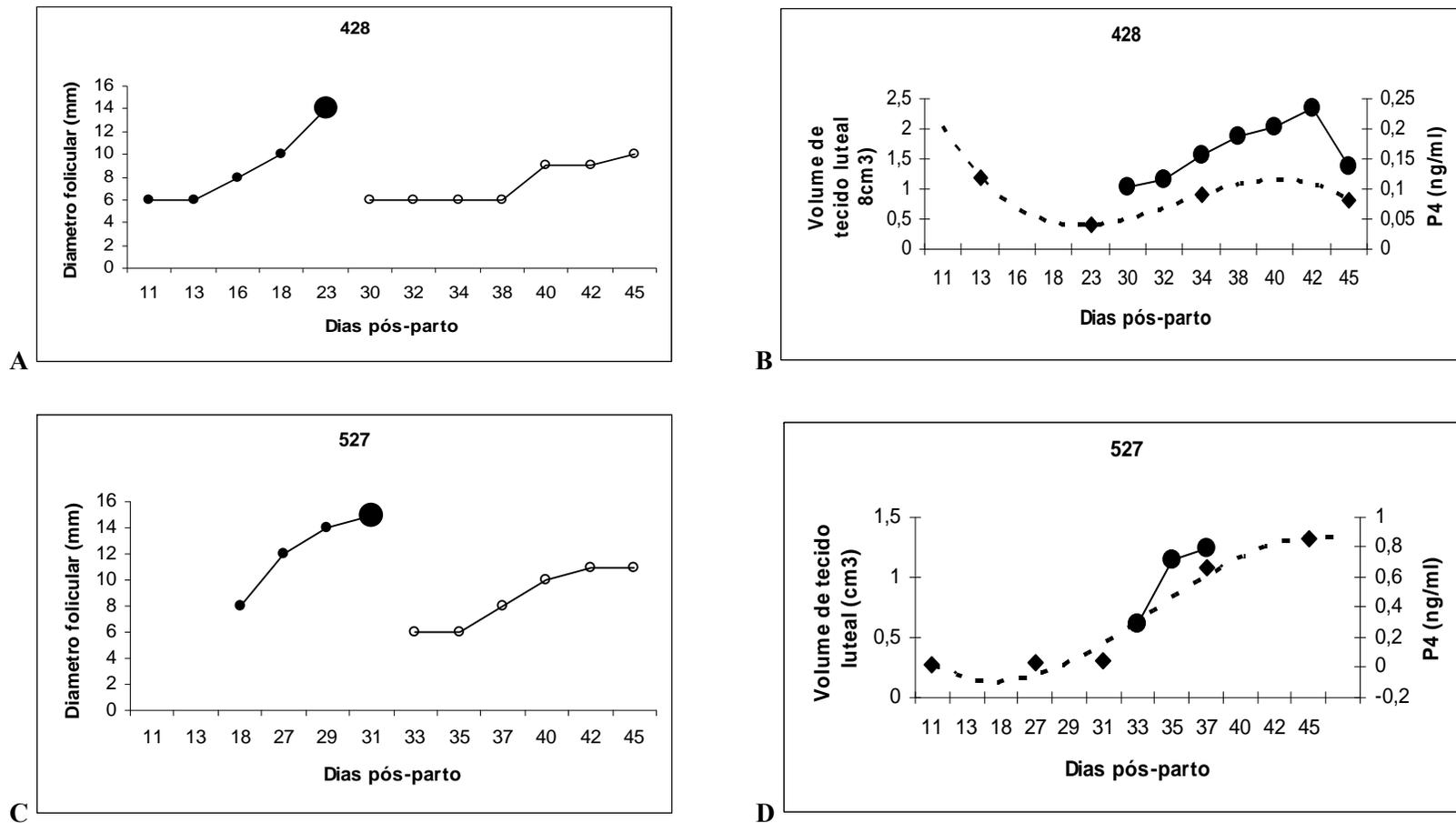


Figura 31. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo propileno glicol. ● Ovulação. A) Vaca 428 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 428 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 527 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); D) Vaca 527 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)).

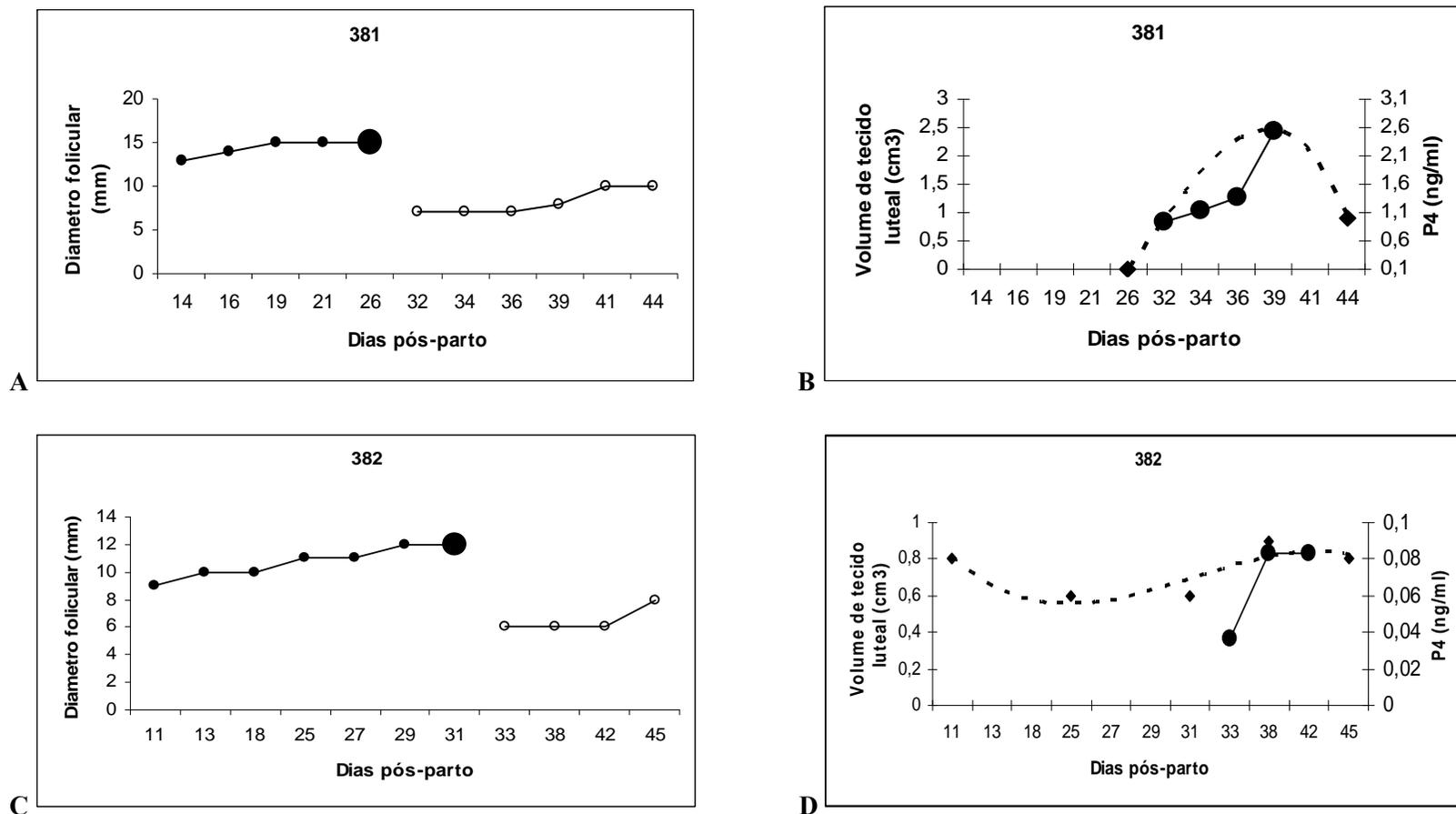


Figura 32. Dinâmica folicular e concentrações de progesterona de vacas do grupo propileno glicol. ● Ovulação. A) Vaca 381 (-●- folículo maior, -○- folículo codominante); B) Vaca 381 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³)); C) Vaca 382 (-●- folículo maior, -○- folículo codominante); B) Vaca 382 (-◆- Concentração de progesterona (ng/mL), -●- volume de tecido luteal (cm³));

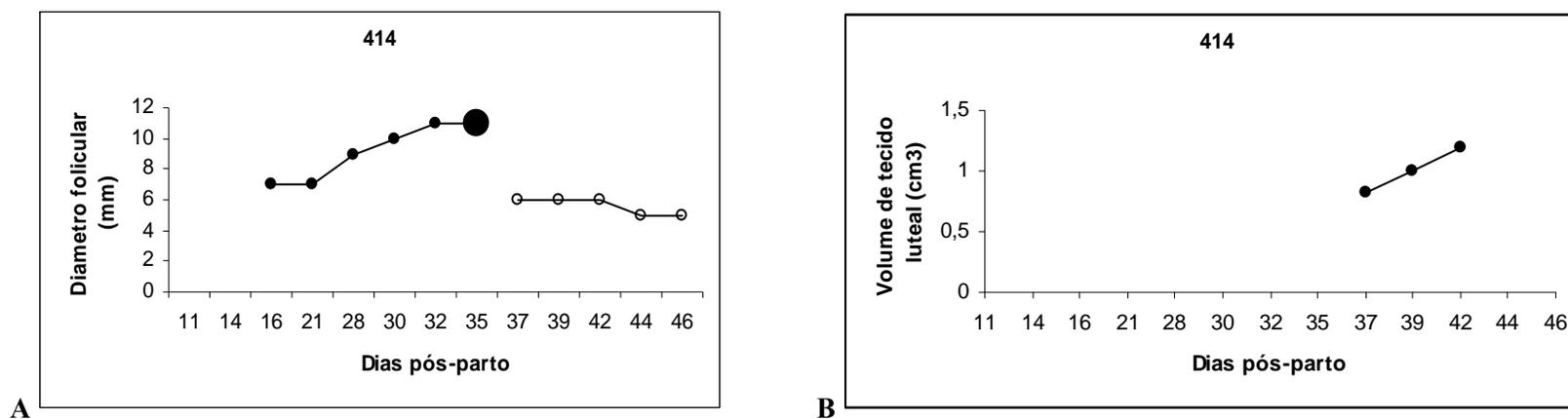


Figura 33. Dinâmica folicular e volume de tecido luteal de vacas do grupo propileno glicol. ● Ovulação. A) Vaca 414 (-●- folículo dominante, -○- folículo codominante); B) Vaca 414 (-●- volume de tecido luteal (cm³))

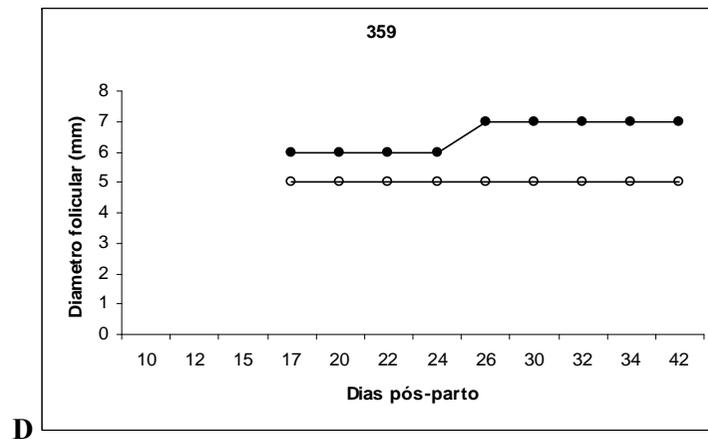
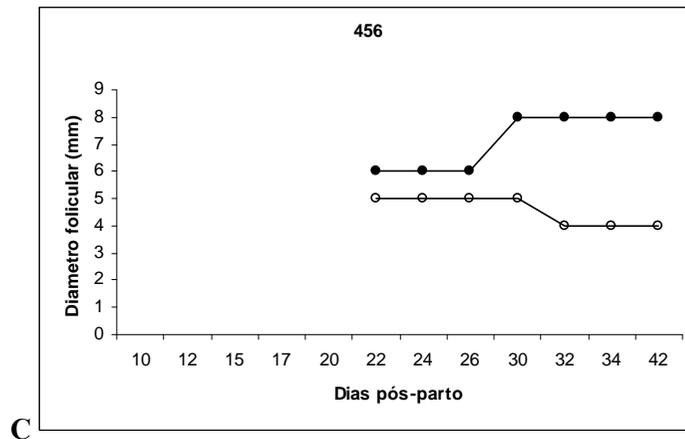
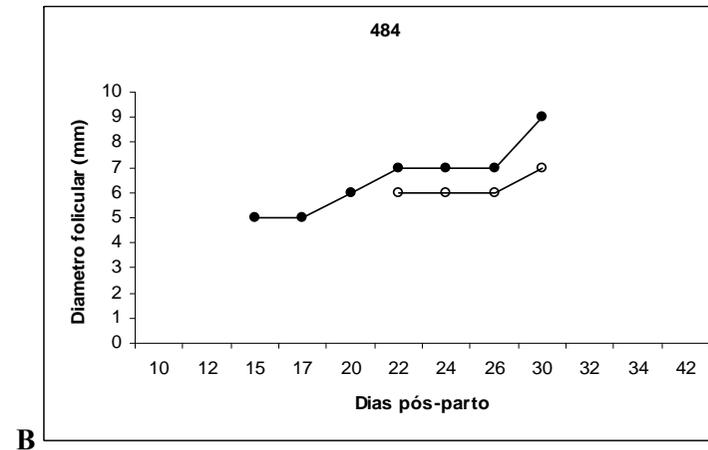
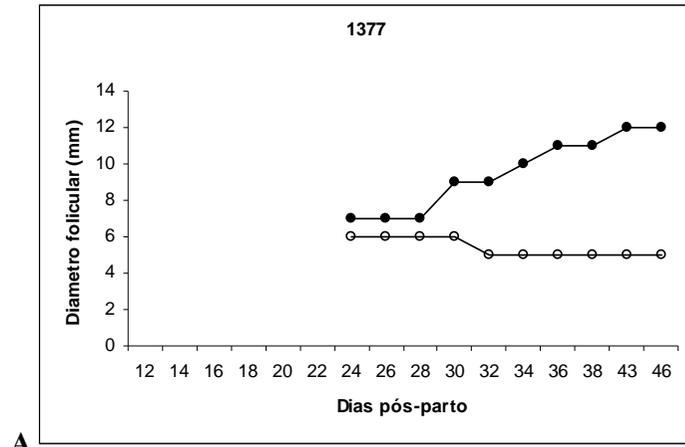


Figura 34. Dinâmica folicular de vacas do grupo propileno glicol. A) Vaca 1377 (-●- folículo maior, -○- folículo segundo maior); B) Vaca 484 (-●- folículo maior, -○- segundo folículo maior); C) Vaca 456 (-●- folículo maior, -○- segundo folículo maior); D) Vaca 359 (-●- folículo maior, -○- segundo folículo maior)

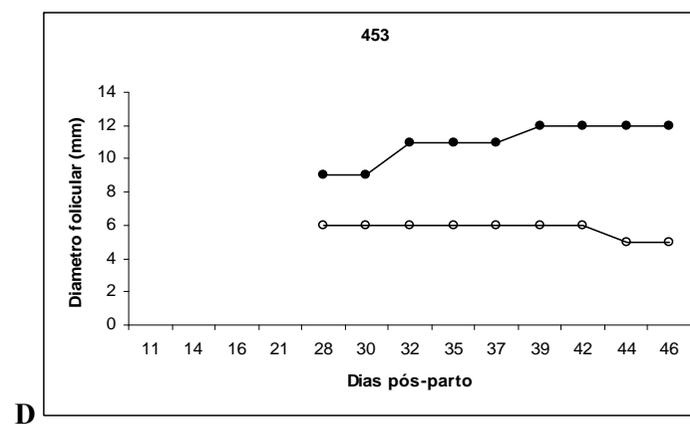
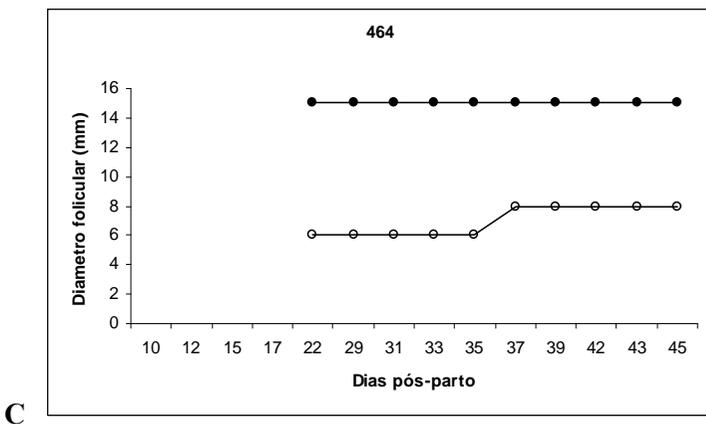
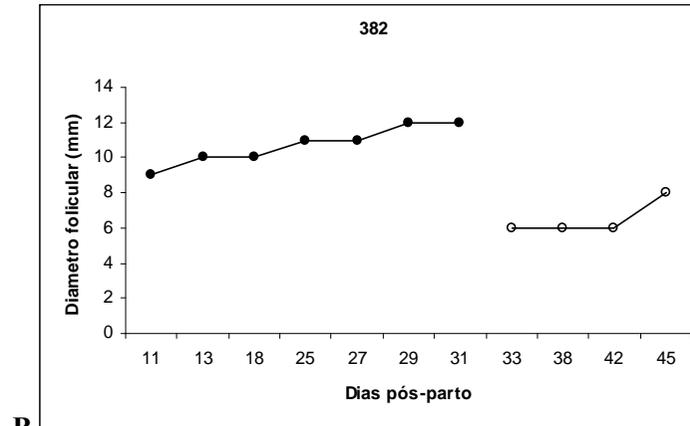
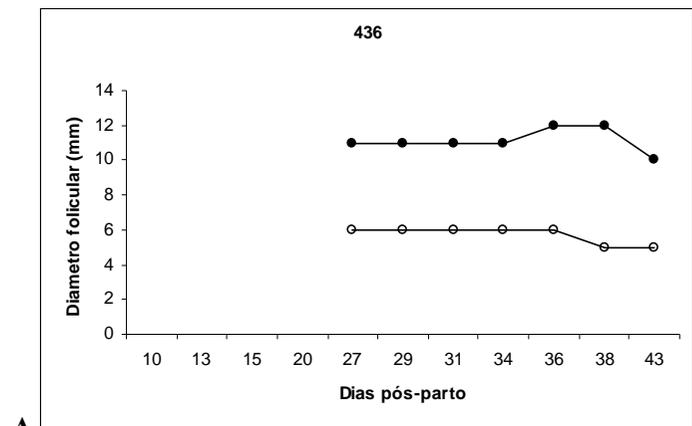


Figura 35. Dinâmica folicular de vacas do grupo propileno glicol. A) Vaca 438 (-●- folículo maior, -○- folículo segundo maior); B) Vaca 382 (-●- folículo maior, -○- segundo folículo maior); C)); B) Vaca 464 (-●- folículo maior, -○- segundo folículo maior); D) Vaca 453 (-●- folículo maior, -○- segundo folículo maior)

O padrão de crescimento folicular mais eficiente no período pós-parto foi o apresentado pelo grupo SCAGP, que foi caracterizado pela diminuição no número de folículos de classes I e II e aumento no número de folículos maiores (classes III e IV), à medida que aumentaram os dias pós-parto. O crescimento folicular observado neste grupo coincide com o conceito de recrutamento folicular e dominância. De forma geral, os folículos de menor diâmetro (classe I) passam pelos processos de recrutamento e seleção para folículos maiores (6 – 9 mm), sendo que o número deste tipo de folículos permanece estável, provavelmente devido a que esta classe folicular representa uma fase transitória onde sempre vai ter folículos sofrendo processos de seleção e dominância.

O grupo SCAGP apresentou as maiores concentrações plasmáticas de insulina, glicose e IGF-I, e menores concentrações de AGNE nos dias avaliados no pós-parto, quando comparado com os outros grupos, o que refletiu de maneira positiva na dinâmica folicular pós-parto. A maior disponibilidade de glicose e insulina, como foi observada no grupo SCAGP, sinaliza metabolicamente outros órgãos para o retorno à sua normalidade fisiológica, como por exemplo, sinaliza ao eixo hipotálamo – pituitária – ovariano para liberação de gonadotrofinas e posterior desenvolvimento folicular (Staples et al., 1998; Moallem et al., 2007; Kawashima et al., 2007; Patton et al., 2007).

O melhor desenvolvimento folicular em vacas suplementadas com gordura tem sido reportado por vários autores (Hightshoe et al., 1991; Lucy et al., 1991; Williams, 1996; Lammoglia et al., 1997; De Fries et al., 1998 ; Staples et al., 1998; Armstrong et al., 2001; Moallem et al.,

2007). Embora os mecanismos envolvidos nesta resposta não estejam bem definidos, pode-se inferir que a gordura suplementar favorece o desenvolvimento folicular via metabólitos e hormônios que atuam no sistema nervoso central, influenciando a secreção de GnRH (Lammoglia et al., 1997). Outro mecanismo pelo qual a gordura dietética poderia afetar o desenvolvimento folicular seria via ação de metabólitos e hormônios diretamente no ovário. Vários estudos reportam diferenças no crescimento folicular quando são fornecidos ácidos graxos mono e poliinsaturados, sugerindo que existem efeitos diferenciais do perfil de ácidos graxos sobre o desenvolvimento folicular (Bilby et al., 2006). Devido a semelhança no perfil de ácidos graxos das duas fontes de gordura utilizadas neste experimento, os resultados de dinâmica folicular obtidos para estes grupos diferem provavelmente devido às diferenças no perfil metabólico e hormonal (maiores concentrações de insulina e glicose no grupo SCAGP quando comparado com o grupo soja tostada), o que poderia estar relacionado com o tipo de fornecimento dos aditivos e com o consumo dos grupos, refletindo de maneira negativa no desempenho reprodutivo dos animais.

Thomas e Williams (1996) observaram que a suplementação de vacas leiteiras com óleo de soja aumentou as concentrações plasmáticas de insulina, bem como as concentrações de IGF-I folicular, o que esteve associado a melhor padrão de crescimento folicular. Sabe-se que a insulina é um sinalizador importante dos efeitos da nutrição sobre a dinâmica folicular em bovinos (Webb et al., 2004). A glicose, por sua vez, é considerada como um dos metabólitos mais importantes no funcionamento adequado do processo reprodutivo, por ser a principal fonte utilizada pelo sistema

nervoso central para síntese e liberação de GnRH (Keisler et al., 1996). Qualquer alteração nas concentrações disponíveis de glicose poderia reduzir a liberação de GnRH do hipotálamo. Desta forma, a insulina junto com a glicose podem estimular a liberação de GnRH a partir do hipotálamo. No ovário, a insulina estimula a proliferação celular e a esteroidogênese (Armstrong et al., 2001). A insulina também está associada com a produção de IGF-I pelo fígado. Kawashima et al. (2007) sugeriram que as concentrações plasmáticas de IGF-I estariam relacionadas ao crescimento do folículo dominante ovulatório, e que a insulina, estaria relacionada com o processo de maturação e ovulação deste folículo dominante, na primeira onda folicular pós-parto. Estas observações estão de acordo com os resultados observados neste experimento, para o grupo SCAGP, já que as concentrações de IGF-I foram altas durante o crescimento dos folículos ovulatórios (entre o 28^o e 46^o dia pós-parto) e, no momento da ovulação (24^o dia pós-parto), as concentrações de insulina foram maiores também, quando comparado com os outros grupos experimentais. Desta forma, as concentrações de insulina, glicose e IGF-I atuam como sinalizadores metabólicos para o retorno à atividade ovariana cíclica no pós-parto (Patton et al., 2007).

Na tabela 15 são apresentados os valores do diâmetro (mm) do maior folículo e do volume de tecido luteal (cm³), nos diferentes grupos experimentais. Não houve efeito das fontes energéticas (P>0,05) no diâmetro do maior folículo e no volume de tecido luteal nos diferentes grupos, embora o grupo SCAGP tenha

apresentado o maior valor numérico de diâmetro folicular (16,10 mm) quando comparado com os outros grupos.

Staples et al. (1998) fizeram extensa revisão do efeito da utilização de ácidos graxos na reprodução. Dentre os diferentes resultados por eles encontrados, pode-se mencionar que, nas pesquisas em que foram utilizados os sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados, e quando comparados com outras fontes de gordura, os animais que receberam sais de cálcio apresentaram folículos dominantes de maior diâmetro e manifestações de estro mais acentuadas (71,4% vs 65,6%), maior percentagem de ovários cíclicos (75,4 % vs 69,5%), apresentando também maior número de corpos lúteos com maior volume de tecido luteal.

Na tabela 15 são apresentados o número de ovulações nos diferentes grupos avaliados. Não houve efeito (P>0,05) do número de ovulações em todos os contratos testados pelo teste Exato de Fisher (P>0,05), embora o grupo SCAGP tenha apresentado o maior número de ovulações em relação ao número total de animais. No entanto, os mecanismos pelos quais os ácidos graxos poliinsaturados interferem no desempenho reprodutivo ainda não estão bem estabelecidos. Jenkins (1998) sugeriu que os ácidos graxos poliinsaturados, contidos nos sais de cálcio, aumentam as concentrações do LH estimulando o processo de ovulação. Os ácidos graxos poliinsaturados também aumentariam as concentrações de colesterol, precursor da progesterona, ajudando assim na manutenção do corpo lúteo.

Tabela 15. Efeito médio geral e desvio padrão do diâmetro do folículo maior (mm), do volume de tecido luteal (cm³) e do intervalo parto primeira ovulação (dias) (IPPO) e número de ovulações segundo análise de progesterona plasmática (acima de 1 ng/mL) de vacas leiteiras alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição

	Grupos				P	CV (%)
	Controle	SCAGP*	Soja tostada	Propileno glicol		
n	11	10	10	13		
Numero ovulações	9	10	6	5	>0,05	NA
Numero de vacas que ovularam (P4 acima de 1 ng/ml)	8	9	6	2	NA	NA
Ovulações duplas	1	1	0	0	NA	NA
Vacas com Folículos persistentes	1	0	4	7	NA	NA
Diâmetro folículo ovulatório (mm)	13,95±2,60	16,10±4,90	12,40±1,64	12,70±3,05	0,06	23,83
Volume de corpo lúteo (cm ³)	1,78±0,47	1,78±0,95	1,64±0,73	1,16±0,41	0,98	42,48
Intervalo parto-primeira ovulação (dias)	28,77±6,47 b	23,30±6,23 b	30,20±11,32 b	36,75±4,33 a	0,003	23,53

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem pelo teste de Scott Knott (P<0,05). **Teste exato de Fischer (P>0,05). NA: Não se aplica.

*Sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados

A secreção de LH é regulada parcialmente pelo estatus energético do animal. A energia proveniente da gordura suplementar aumenta a secreção de LH em animais deficientes em energia (Funston, 2004). Mecanismos diferentes ao incremento energético não tem sido esclarecidos referente ao aumento nas concentrações de LH em animais suplementados com gordura. Staples et al. (1998) sugeriram que o aumento na liberação de LH poderia estar relacionado com maior disponibilidade de glicose quando são fornecidas gorduras, uma vez que o incremento na captação de ácidos graxos pela glândula mamária levaria à diminuição na síntese de novo de ácidos graxos e, conseqüentemente reduzindo o processo de oxidação de glicose pela via das pentoses fosfatadas, disponibilizando maior quantidade de glicose para sinalizar ao eixo hipotálamo - pituitário para secretar mais LH. O incremento nas concentrações de glicose pode ter efeitos positivos na liberação de LH.

4.5.1. Avaliações Zootécnicas

O intervalo parto – primeira ovulação, nos animais suplementados com propileno glicol, apresentou-se maior, quando comparado com os outros grupos ($P < 0,05$) (Tabela 15). Mesmo não observando diferenças entre os outros três grupos, numericamente o grupo SCAGP apresentou o menor intervalo parto - primeira ovulação, quando comprado com os grupos controle e soja tostada (23,30 vs 28,77 vs 30,20 respectivamente). Jenkins (1998) também relatou os efeitos dos ácidos graxos no desempenho reprodutivo. Este autor afirma que a inclusão de gordura

na dieta aumenta as taxas de concepção e de prenhez e diminui o intervalo parto - concepção.

Os resultados observados nos grupos propileno glicol, soja tostada e controle estão de acordo com o perfil metabólico e hormonal descrito anteriormente, que, em conjunto, fizeram com que o intervalo parto - primeira ovulação fosse comprometido, o que poderia influenciar de maneira negativa a eficiência reprodutiva no decorrer da lactação.

As respostas observadas nos grupos suplementados com gordura (SCAGP e soja tostada) mostraram resultados semelhantes em alguns dos parâmetros avaliados, indicando que a gordura protegida poderia melhorar o estatus metabólico e hormonal dos animais no período de transição. Mesmo assim, as respostas de dinâmica folicular e eficiência reprodutiva não favoreceram ao grupo suplementado com soja tostada, já o grupo SCAGP apresentou o melhor perfil metabólico, bem como o mais rápido retorno à atividade cíclica ovariana pós-parto, visualizada pelo melhor padrão de crescimento folicular e pela redução no intervalo parto - primeira ovulação. O anterior indica que esta fonte energética foi capaz de reduzir as mudanças hormonais e metabólicas severas, características do período de transição; tendo efeito positivo sobre outros parâmetros fisiológicos que podem refletir numa possível melhor eficiência reprodutiva trazendo benefícios produtivos e financeiros para o sistema de produção. De maneira geral, as pesquisas mostram que o fornecimento de gordura em vacas leiteiras melhora os índices de fertilidade e que as respostas à gordura suplementar

variam de acordo com o perfil de ácidos graxos, embora não sejam consistentes. Assim o fornecimento de ácidos graxos n-3 e n-6 melhorou os índices de fertilidade em alguns estudos e os efeitos positivos observados nestes estudos foram contrários em outros. Os resultados obtidos neste experimento com a adição de propileno glicol não foram compatíveis com outros trabalhos que observaram melhoria na dinâmica folicular e no desempenho reprodutivo dos animais suplementados com propileno glicol, durante o período de transição (Artunduaga et al., 2007). O anterior, provavelmente devido ao tipo de fornecimento utilizado no experimento, bem como a dose utilizada, que não foi suficiente para induzir as mudanças metabólicas e hormonais esperadas com a utilização do aditivo gliconeogênico.

5. CONCLUSÕES

A adição de gordura protegida na forma de sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados esteve associada com melhor perfil metabólico e hormonal de vacas primíparas durante o período de transição, e se mostrou eficiente em acelerar o retorno à atividade ovariana cíclica pós-parto.

A adição de gordura na forma de soja tostada se mostrou eficiente em melhorar as concentrações de IGF-I em vacas primíparas durante o período de transição, mas esta resposta não esteve associada com melhor perfil metabólico.

A adição de propileno glicol não refletiu alterações importantes no perfil metabólico e hormonal de vacas

primíparas durante o período de transição, possivelmente devido à dose e tipo de fornecimento do aditivo.

A adição de gordura na forma de sais de cálcio de ácidos graxos poliinsaturados e de propileno glicol se mostrou efetiva em aumentar a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura quando comparados com o grupo soja tostada em vacas primíparas durante o período de transição.

A adição de propileno glicol se mostrou efetiva em aumentar o teor de lactose do leite.

A adição de suplementos energéticos na dieta de vacas primíparas durante o período de transição não teve efeito sobre o teor de gordura e proteína do leite.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKERS, R.M. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.1222-1234, 2006.

ALLEN, M.S.; MERTENS, D.R. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. *Journal of Nutrition*, v.118, p.261-270, 1988.

AMBROSE, D.K.; KASTELIC, J.P.; CORBERTT, R.; et al. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.3066-3074, 2006.

ARMSTRONG, D.G.; McEVOY, T.G.; BAXTER, G.; et al. Effect of dietary

energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production In Vitro: associations with the ovarian IGF system. *Biology of Reproduction*, v.64, p. 1624-1632, 2001.

ARTUNDUAGA, M.A.T.; SÁ FORTES, R.V.; COELHO, S.G. et al. Atividade ovariana de vacas leiteiras em dietas com propileno glicol ou monensina no período de transição. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.2, p. 289-293, 2008.

BAUMAN, D.E.; CURRIE, W.B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, v.63, p.1514-1529, 1980.

BEAM, S.; BUTLER, W.R. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, Supl.54, p.411-424, 1999.

BEAM, S.; BUTLER, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction*, v. 56, p. 133-142, 1997.

BELL, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, v.73, p. 2804-2819, 1995.

BERTICS, S.J.; GRUMMER, R. R.; CADORNIGA-VALINO, C.; et al. Effect of parturition dry matter intake on

liver triglyceride concentration and early lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 1914-1922, 1992.

BINES, J.A.; HART, I.C. Hormonal regulation of the partition of energy between milk and body tissue in adult cattle. *Proceedings of the Nutrition Society*. v.37, p.281-287, 1978.

BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D. C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 3105-3124, 2004.

BORGES, A.M. Influência de diferentes manejos e tratamentos hormonais na dinâmica ovariana durante o ciclo estral e o anestro pós-parto de vacas gir e nelore. Viçosa, MG, 2001, 134 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, 2001.

BRITT., J.H. Reproductive performance as affected by nutrition and environment. In: 3rd Florida Ruminant Nutrition Symposium, 1992, Orlando, Anais... Orlando, 93-101, 1992.

BROCKMAN, R.P.; LAARVELD, B. Hormonal regulation of metabolism in ruminants: A review. *Livestock Production Science*, v.14, p.313-334, 1986.

BUTLER, ST; PELTON, S.H; BUTLER, W.R. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 2938-2951, 2006.

BUTLER, W.R. Suplementação de ácidos graxos na dieta e eficiência

reprodutiva em vacas leiteiras. X Congresso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Uberlândia, Minas Gerais, 2008.

CANFIELD, R.W.; BUTLER, W.R. Energy balance and pulsatile luteinizing hormone secretion in early postpartum dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, v.7, p. 232-330, 1990.

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

CHRISTENSEN, J.O.; GRUMMER, R.R.; RASMUSSEN, F.E.; et al. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 563-56, 1997.

CHRISTOPHER, M. M.; ECKFELDT, J. H.; EATON, J. W. Propylene glycol ingestion causes D-lactic acidosis. *Laboratory Investigation*, v. 62, p. 114-118, 1990.

COZZI, G.; BERZAGHI, P.; GOTTORDO, F.; GABAI, G.; ANDRIGHETTO, I. Effects of feeding propylene glycol to mid-lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, v. 64, p. 43–51, 1996.

CULLENS, F.M.; STAPLES, C.R.; BILBY, T.R.; et al. Effect of timing of initiation of fat supplementation on milk production, plasma hormones and metabolites, and conception rates of Holstein cows in summer. *Journal of Dairy Science*, v.86 (Suppl.1), p.308, 2004 (abstract).

CZERKAWISK, J. W.; BRECKERINDGE, G. Dissimilation of 1,2-propanediol by rumen micro-organisms. *British Journal of Nutrition*, v.29, p. 317-330, 1973.

De FRIES, C.A.; NEUENDORFF, D.A.; RANDEL, R.D. Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman cows. *Journal of Animal Science*, v.76, p.864-870, 1998.

DOMECQ, J.J.; SKIDMORE, A.L.; LLOYD, J.W.; et al. Relationship between body condition scores and conception at first insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.80, p.113-120. 1997.

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

EMERY, R. S.; BROWN, R. E.; BLACK, A. L. Detection, occurrence, and prophylactic treatment of bordiline ketosis with propylene glycol feeding. *Journal of Dairy Science*, v. 47, p. 1074-1079, 1964.

EMERY, R. S.; BROWN, R. E.; BLACK, A. L. Metabolism of DL-1,2-propanediol-2¹⁴C in a lactating cow. *Journal of Nutrition*, v. 92, p. 348-354, 1967.

ETHERTON, T.D.; BAUMAN, D.E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiological Reviews*, v.78, n.3, 1998.

FALDET, M.A; SATTER, L.D. Feeding heat-treated full fat soybeans to cows in

early lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 74, p. 3047-3054, 1991.

FARIA, B.N. Perfil metabólico, hormonal e da fermentação ruminal de vacas leiteiras no período de transição alimentadas com aditivos gliconeogênicos. Tese de Doutorado. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 126 p, 2006.

FAULKNER, A.; POLLOCK, H.T. Metabolic responses to euglycaemic hyperinsulinaemia in lactating and non-lactating sheep in vivo. *Journal of Endocrinology*, v. 124, p. 59-66, 1990.

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

FISHER, L.J.; ERFLE, J.D.; LODGE, G.A. et al. Effect of propylene glycol or glycerol supplementation of the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. *Canadian Journal of animal Science*, v. 53, p. 289-296, 1973.

FONSECA, L.F.; LUCCI, C.S.; RODRIGUES, P.H.M.; et al. Supplementation of propylene glycol to dairy cows in periparturient period: effects on plasma concentration of BHBA. *Journal of Dairy Science*, v. 76 (Suppl. 1), p. 320, 1998.

FORMIGONI, A.; CORNIL, M.; PRANDI, A., et al. Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and

metabolic characteristics in dairy cows. *Journal of Dairy Reserach*, v. 63, p.11-24, 1996.

FUNSTON, R.; SEIDEL, G.; KLINDT, J.; et al. Insulin-like growth factor I and insulin -like growth factor proteins in bovine serum and follicular fluid before and after the preovulatory surge of luteinizing hormone. *Biology of Reproduction*, v.55, p.1390-1396, 1996.

FUNSTON, R.N. Fat supplementation and reproduction in beef females. *Journal of Animal Science*, v.82, p.154-161, 2004.

GARNSWORTHY, P.C.; LOCK, A.; MANN, G.E.; et al. Nutrition, metabolism and fertility in dairy cows: 1. Dietary energy source and ovarian function. *Journal of Dairy Science*, v.91, p.3814-3823, 2008.

GARNSWORTHY, P.C.; LOCK, A.; MANN, G.E.; et al. Nutrition, metabolism and fertility in dairy cows: 2. Dietary fatty acids and ovarian function. *Journal of Dairy Science*, v.91, p.3824 - 3833, 2008.

GOODMAN, R.L.; KARSH, F.J. Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinology*, v. 107, p. 1286-1290, 1980.

GRANT, R. J.; ALBRIGHT, J. L. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v. 73, p. 2791-2803, 1995.

GRAVET, H.O . Breeding of dairy cattle. In: *Dairy Cattle Production*,

Elsevier Science, New York, Gravel, p.35-76, 1987.

GRIINARI, J.M.; McGUIRRE, M.A.; DWYER, D.A.; et al. The role of insulin in the regulation of milk protein synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science.*, v. 80, p. 2361-2371, 1997.

GRUM, D.E.; DRACKLEY, J.K.; HANSEN L.R.; et al. Production, digestion, and hepatic lipid metabolism of dairy cows fed increased energy from fat or concentrate. *Journal of Dairy Science*, v. 79, p. 1836-1849, 1996.

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

GRUMMER, R. R.; WINKLER, J. C.; BERTICS, S. J.; et al. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, v. 77, p. 3618-3623, 1994.

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

GRUMMER, R.R.; CARROLL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v.69, p.3838-3852, 1991.

GRUMMER, R.R.; MASHEK, D.G.; HAYIRLI, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics of North America:*

Food and Animal Practice, v. 20, p. 447-470, 2004.

GUPTA, N. K.; ROBINSON, W. G. The enzymatic conversion of lactaldehyd to propanediol. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 235, p. 1609-1612, 1960.

HERDT, T.H. Fuel homeostasis in the ruminant. *Veterinary Clinics of North America: Food and Animal Practice*, v.4, p. 213-231, 1988.

HOUGH, G.M.; McDOWEL, G.H.; ANNISON, E.F.; et al. Glucose metabolism in hind limb muscle of pregnant and lactating ewes. *Proceedings of the Nutrition Society of Australia*, v. 10, p. 239, 1985.

HUFF, E. The metabolism of 1,2-propanediol. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 48, p. 506-517, 1961.

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

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

JENKINS, T. C.; MCGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. *Journal of Dairy Science.*, v. 89, p. 1302-1310, 2006.

JENKINS, T.C. Improving productive efficiency of dairy rations with added fat. In: *Proc. Advanced Dairy Workshop*. 1998.

JORRISTMA, R.; WENSING, T.A.M.; KRUIP, P.L.A..M.; et al. *Metabolic*

changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinary Research*, v.34, p.11-26, 2003.

JUCHEM, S.O. Lipid digestion and metabolism in dairy cows: Effects on production, reproduction and health. PhD thesis, University of California Davis, 2007.

JUCHEM, S.O.; SANTOS, F.A.; IMAIZUMI, H.; et al. Production and blood parameters of Holstein cows treated prepartum with sodium monensin or propylene glycol. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 680-689, 2004.

KAWASHIMA, C.; FUKIHARA, S.; MAEDA, M.; et al. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high producing dairy cows. *Reproduction*, v.133, p. 155-163, 2007.

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*, v. 74, p. 2563-2572, 1991.

LAMMING, G.E.; WATHES, D.C.; PETERS, A.R. Endocrine patterns of the post-partum cow. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 30, p.155-170, 1981.

LAMMOGLIA, M.A.; WILLARD, S.T.; OLDHAM, J.R.; et al. Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and on hormonal, cholesterol, triglycerides, follicular pattern, and postpartum

reproduction in Brahman cows. *Journal of Animal Science*, v.74, p.2253-2262, 1996.

LEROY, J.L.M.R.; VANHOLDER, T.; DELANGHE, J.R.; et al. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different sized follicles and their relationship to serum concentration in dairy cows. *Animal Reproduction science*, v.80, p. 201-221, 2004.

LUCY, M.C. Functional differences in the growth hormone and insulin like growth factor axis in cattle and pigs: Implications for post-partum nutrition and reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, v.43 (Suppl. 2), p.31-39, 2008a.

LUCY, M.C. Nutrient partitioning and reproductive performance in dairy cows. *Intermountain Nutrition Conference*. Utah State University, Salt Lake City, 2008b.

LUCY, M.C. Reproductive loss in high producing dairy cattle: Where it will end? *Journal of Dairy Science*, v.84, p.1277-1293, 2001.

LUCY, M.C.; DE LA SOTA, R.L.; STAPLES, C.R.; et al. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin or saline and fed diets differing in fat content and energy. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.1014-1027, 1993.

LUCY, M.C.; JIANG, H.; KOBAYASHI, Y. Changes in the somatotrophic axis associated with the initiation of lactation. *Journal of Dairy*

Science, v.84 (E. Suppl.), E113-E119, 2001.

LUCY, M.C.; STAPLES, C.R.; MICHEL, F.M.; THATCHER, W.W. Energy balance and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early post-partum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 74, p. 473-482, 1991.

MADSEN, A. The molecular basis of animal production: metabolism in adipose cells. In: RIIS, P.M. *Dynamic Biochemistry of Animal Production*, Amsterdam: Elsevier Sciences Publishers, p. 29-52, 1983.

MATTOS, R.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction*, v.5, p.38-45, 2000.

McNAMARA, S.; BUTLER, T.; RYAN, D.P.; et al. Effect of offering rumen – protected fat supplements on fertility and performance in spring-calving Holstein-Friesian cows. *Animal Reproduction Science*, v.79, p.45-56, 2003.

MIHM, M.; CROWE, M.A.; KNIGHT, P.G.; AUSTIN, E.J. Follicle wave growth in cattle. *Reproduction of Domestic Animals*, v. 37, p.191-200, 2002.

MIYOSHI, S.; PATE, J.L.; PALMIQUIST, D.L. Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, v. 68, p. 29-43, 2001.

MOALLEM, U.; KATZ, M.; LEHRER, H.; et al. Role of peripartum dietary

propylene glycol or protected fats on metabolism and early postpartum ovarian follicles. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.1243-1254, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, *Nutritional Requirements of Dairy Cattle*. Washington D.C. National Academy Press., 2001.

NETT, T.M. Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 34, p.201-213, 1987.

NIELSEN, N.I; INGVAERTSEN, K.L. Propyleneglycol for dairy cows: a review of the metabolism of propyleneglycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology*, v. 115, p. 191-123, 2004.

OFFICIAL methods of analysis. 13ed. Washington DC: AOAC, 1980.

OFFICIAL methods of analysis. 15ed. Washington DC: AOAC, 1990.

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

OVERTON, T.R. Managing the metabolism of transition cows. In: *Proceedings of the Western Dairy Management Conference 6*, Reno: Nevada, p. 7-16, 2003.

- OVERTON, T.R.; DRACKLEY, J.K.; OTTEMANN-ABBAMONTE, C.J.; et al. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants, *Journal of Animal Science*, v. 77, p. 1940-1951, 1998.
- OVERTON, T.R.; WALDRON, M.R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. E105-E119, 2004.
- PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: Review. *Journal of Dairy Science*, v. 63, p. 1-14, 1980.
- PATTON, J.; KENNY, D.A.; McNAMARA, S.; et al. Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes and reproduction in Holstein – Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.649-658, 2007.
- PETERS, A.R.; LAMMING, G.E. Regulation of ovarian function in the post-partum cow: An endocrine model. *The Veterinary Record*, v. 118, p. 236-239, 1986.
- PETTERSON, J.A.; SLEPETIS, R.; EHRHARDT, R.A.; DUNSHEA, F.R.; BELL, A.W. Pregnancy but not undernutrition attenuates insulin suppression of fat mobilization in sheep. *Journal of Nutrition*, v. 124, p. 2431-2442, 1994.
- PICKETT, M.M.; PIEPENBRINK, M.S.; OVERTON, T.R. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition and production of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 2113-2121, 2003.
- 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*, v. 79, p. 1603-1610, 1996.
- REYNOLDS, C.K.; AIKMAN, P.C.; LUPOLI, B.; et al. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 1201-1217, 2003.
- RHODES, F.M.; McDOUGALL, S.; BURKE, C.R.; et al. Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrus interval. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 1876-1894, 2003.
- RICHARDS, M.W.; WETTEMAN, R.P.; SPICER, L.J.; et al. Nutritional anestrus in beef cows: effects of body condition and ovariectomy on serum luteinizing hormone and insulin-like growth factor I. *Biology of Reproduction*, v. 44, p. 961-966, 1991.
- ROCHE, J.F.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Animal Reproduction Science*, v.28, p.371-378, 1992.
- SANTOS, J.E.P. Efeitos da nutrição e do manejo periparto na eficiência reprodutiva de vacas de leite. Em: IX curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 2005. p. 29-44.
- SANTOS, J.E.P.; BILBY, T.R.; THATCHER, W.W.; et al. Long chain

- fatty acids as factors influencing reproduction in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, v.43 (Suppl.2), p.23-30, 2008.
- SAVIO, J.D.; BOLAND, M.P.; HYNES, N.; et al. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 88, p.569-579, 1990.
- SHINGFIELD, K.J.; JAAKKOLA, S.; HUHTANEN, P. Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on diet digestibility, rumen fermentation, blood metabolite concentrations and nutrient utilization of dairy cows. *Anim Feed Sci Technol*, v. 97, p. 1-21, 2002.
- STAPLES, C.R.; BURKE, J.M.; THATCHER, W.W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.856-871, 1998.
- STRANG, B.D.; BERTICS, S.J.; GRUMMER, R.R.; et al. Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 728-739, 1998.
- STUDER, V. A.; GRUMMER, R. R.; BERTICS, S.J.; et al. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 76, p. 2931-2939, 1993.
- TUCKER, H.A. Endocrine and neural control of mammary gland. In *Lactation*, Larson, B.L. Iowa: The Iowa State University Press, p. 39-79, 1985.
- TYRRELL, H.F.; REID, J.T. Prediction of the energy value of cow's milk. *Journal Dairy Science*, v. 48, n.9, p. 1215-1223, 1965.
- VAN KNEGSEL, A.T.M.; VAN DEN BRAND, H.; DIJKSTRA, J.; et al. Effect of Glucogenic vs. Lipogenic diets on energy balance, blood metabolites and reproduction in primiparous and multiparous Dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.3397-3409, 2007.
- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of ruminant*. 3rd Edição, Ithaca: Cornell University Press, 1994. (476 p).
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VAZQUEZ-ANON, M.; BERTICS, S. J.; LUCK, M.; et al. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 77, p. 1521-1528, 1994.
- VELAZQUEZ, M.A.; SPICER, L.J.; WATHES, D.C. The role of endocrine insulin like growth factor in female bovine reproduction. *Domestic Animal Endocrinology*, 2008.
- VILLA-GODOY, A.; HUGHES, T.L.; EMERY, R.S.; et al. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 71, p. 1063-1072, 1988.

VILLELA, D.; MATOS, L.L.; ALVIM, M.J.; et al. Utilização de soja integral tostada na dieta de vacas em lactação, em pastagens de coast-cross: cynodon dactylon, L. Pers. Revista Brasileira de Zootecnia., v.32, n.5, p. 1243-1249, 2003.

WEBB, R.; LAMMING, G.E.; HAYNES, N.B.; et al. Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations and ovarian activity in post-partum dairy cows. Journal of Reproduction and Fertility, v. 59, p.133-143, 1980.

WILLIAMS, G.L. Influence of dietary fat intake and metabolism on follicular growth in cattle. Reproduction in Domestic Animals, v.31, p.539-542, 1996.

WISE, M.E.; GLASS, J.D.; NETT, T.M. Changes in the concentration of

hypothalamic and hypophyseal receptors for estradiol in pregnant and postpartum ewes. Journal of Animal Science, v. 62, p. 1021-1026, 1986.

WU, Z.; HUBERT, J. F. Relationship between dietary-fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows: a review. Livestock Production Science, v. 39, p. 141-155, 1994 (Abstr.)

ZULU, V.C.; NAKAO, T.; SAWAMUKAI, Y. Insulin like growth factor I as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. Journal of Veterinary Medicine Science, v.64, n.8, p.657-665, 2002.

ZUREK, E.; FOXCROFT, G.R.; KENNELLY, J.J. Metabolic status and interval to first ovulation in post-partum dairy cows. Journal of Dairy Science, v. 7, p. 1909-1920, 1995.