



**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS
PRÉ-PARTURIENTES COM GLICERINA**

FERNANDA LOPES

2001

FERNANDA LOPES

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS PRÉ-
PARTURIENTES COM GLICERINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para obtenção do título de "Mestre"

Orientador

Prof. José Camisão de Souza

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Lopes, Fernanda

**Suplementação de vacas leiteiras pré-parturientes com glicerina / Fernanda
Lopes. -- Lavras : UFLA, 2001.
58 p. : il.**

**Orientador: José Camisão de Souza
Dissertação (Mestrado) – UFLA.
Bibliografia.**

**1. Bovino. 2. Suplementação. 3. Glicerina. 4. Produção de leite. 5. Cetose. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.**

**CDD-636.2142
-636.20855**

FERNANDA LOPES

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS PRÉ-
PARTURIENTES COM GLICERINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para obtenção do título de "Mestre"

APROVADA em 27 de setembro de 2001

Prof. Marcos Neves Pereira

Prof. Eduardo Pinto Filgueiras

Prof. Ivo Francisco de Andrade


Prof. José Camisão de Sousa

**Lavras
MINAS GERAIS – BRASIL**

2001

Aos meus saudosos avós maternos, Amélia e João

E aos meus avós paternos José (*in memoriam*) e Maria

HOMENAGEIO

A minha irmã, Cristiane e

meu cunhado, Júlio

OFEREÇO

Aos meus pais, Zulmira e José, por todo amor e compreensão

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização deste curso.

Ao professor José Camisão de Sousa, pelo auxílio nas dificuldades, pelos conhecimentos e orientações transmitidos dada no decorrer do curso e, principalmente, pela amizade e admiração nascidas neste período.

Ao professor Marcos Neves Pereira, pela valiosa contribuição, além de grande ajuda e disponibilidade, na execução do experimento no decorrer deste curso.

Ao coordenador do Curso de Pós-Graduação, professor Elias Tadeu Fialho, pela sua disponibilidade.

Aos demais professores do Departamento, meu agradecimento e respeito.

À secretária Keila e aos funcionários da pós-graduação Carlos e Pedro, por esclarecer dúvidas e pela amizade demonstrada.

Ao professor Luiz Ronaldo de Abreu e Cleuza Pedrosa do Amaral Rezende, Departamento de Ciências dos Alimentos, pela convivência amigável.

À professora e amiga Sueli de Fátima, Wesley e aos demais professores do Departamento de Medicina Veterinária, pela concessão do laboratório para preparação das amostras.

Ao funcionário Vitor e produtor Lucas, da Fazenda de Neponuceno, e ao Rogério, gerente da Fazenda de Perdões, pela gentileza em ceder seus animais para o experimento, pela ajuda na condução do experimento nas fazendas e pela amizade.

Às minhas amigas Ana Cristina, Érica, Gabriela e Karla pela amizade, companhia e momentos de descontração.

Aos amigos da pós-graduação Guilherme, Sílvio, Luiz Eduardo, Gabriel, Alexandre, Hudson, Edgar, Flávia, Michela, Celso e às amizades que fiz em Lavras.

A todos que contribuíram para o êxito deste trabalho.

Enfim agradeço a Deus, à Nossa Senhora e Santo Expedito, pelas bençãos alcançadas e pelo dom da Vida.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO	01
2. REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1. Avaliação dos parâmetros metabólicos da vaca no período de transição.....	03
2.2. Metabolismo de ácidos graxos e complexo figado gorduroso e cetose	07
2.3. Considerações sobre cetose em vacas leiteiras.....	10
2.4. Metabolismo e uso do propilenoglicol e glicerina.....	13
2.5. Restabelecimento da reprodução no pós-parto.....	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1. Experimento 1.....	21
3.1.1. Produção e Teor de gordura do leite.....	22
3.1.2. Índices reprodutivos.....	22
3.1.3. Análises Estatísticas.....	22
3.2. Experimento 2.....	24
3.2.1. Dosagens de insulina plasmática.....	25
3.2.2. Análises estatísticas.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. 1. Produção de Leite.....	29
4.1.2. Gordura do leite.....	35
4.1.3. Índices Reprodutivos.....	38
4.2. Experimento 2.....	42

5. CONCLUSÕES	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
APÊNDICE.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE	Ácidos Graxos Não Esterificados
BHBA	Beta-hidróxibutirato
BEN	Balanço Energético Negativo
BEP	Balanço Energético Positivo
CC	Corpos Cetônicos
CPT-I	Cartinina Palmitoltransferase – I
G	Glicerina ou Glicerol
IGF-1	“Insulin-like Growth Factor I”
IMS	Ingestão de Matéria Seca
LH	Hormônio Luteinizante
OAA	Oxaloacetato
PG	Propilenoglicol
TCA	Ciclo do Ácido Tricarboxílico
TGs	Triacilglicerídeos
VLDL	“Very Low Density Lipoproteins”

RESUMO

LOPES, Fernanda. Suplementação de vacas leiteiras pré-parturientes com glicerina. LAVRAS: UFLA, 2001. 58p. (Dissertação - Mestre)*

O trabalho teve como objetivo avaliar a suplementação de glicerina antes do parto, sobre o desempenho produtivo e reprodutivo em vacas de alta produção. O experimento 1 foi conduzido em duas granjas leiteiras, no sul de Minas Gerais Foram utilizadas 42 vacas da raça holandesa múltiparas e primíparas, 21 receberam glicerina em média 7 dias antes da data prevista do parto (300ml/dia), e 21 como controle. Foram analisadas as variáveis: produção de leite, o teor de gordura no leite, intervalo do parto ao 1º serviço, intervalo do parto à concepção, número de serviços por concepção e taxa de concepção aos 150 dias pós-parto. No experimento 2 foram utilizadas seis vacas fistuladas não-gestantes e não lactantes. Os tratamentos foram glicerina, propilenoglicol e controle. A infusão (300ml) dos tratamentos foi replicada por três dias, em esquema fatorial, observando período de três dias entre cada infusão. Cada infusão foi realizada somente uma vez ao dia. Foram feitas coletas de fluido ruminal e amostras de sangue nos tempos 0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 horas após a infusão para análise de pH e insulina plasmática. No experimento 1 tratamento com glicerina influenciou positivamente a produção de leite ($P=0,04$); para a fazenda 2, a produção de leite aumentou 5,2 kg/dia quando comparada à fazenda 1, a interação entre tratamento e semana foi significativa ($P= 0,003$). A paridade sofreu efeito significativo ($P=0,002$), com produção média de leite $19,0\pm 2,4$; $24,4\pm 2,61$ e $24,5 \pm 2,6$ kg/dia, respectivamente para paridade 1, 2 e >3 , porém não houve efeito da interação entre paridade e tratamento. Houve efeito de semana ($P=0,0005$), da fazenda ($P=0,001$) e da interação paridade e tratamento ($P=0,03$), mas não houve efeito do tratamento sobre os teores de gordura. A suplementação de glicerina influenciou parcialmente os índices reprodutivos. No experimento 2 houve diferença ($P=0,10$) para insulina plasmática ($11,1 \pm 2,1$, $17,9 \pm 2,1$, $9,6 \pm 1,8$ $\mu\text{UI/ml}$, respectivamente para glicerina, propilenoglicol e controle). A interação entre tratamento e tempo não foi significativa ($P=0,37$) para concentração de insulina. O propilenoglicol teve pico de produção de insulina ($21,5 \pm 2,8$ $\mu\text{UI/ml}$) após 1,5 horas e a glicerina ($13,9 \pm 2,7$ $\mu\text{UI/ml}$) após 1 hora da infusão; o controle permaneceu estável também após uma hora

* Comitê Orientador: José Camisão de Souza (Orientador), Marcos Neves Pereira-UFLA; Ivo Francisco de Andrade-UFLA; Eduardo Pinto Filgueira-UFLA;

($10,5 \pm 2,5 \mu\text{UI/ml}$). Não houve efeito ($P= 0,90$) dos tratamentos sobre o pH ruminal. Conclui-se que a suplementação de glicerina em vacas leiteiras pré-parturientes influencia a produção de leite de animais de alto potencial genético, sendo comprovado juntamente com os resultados do experimento 2 .

ABSTRACT

LOPES, Fernanda. **Suplementation of dairy cows milk pre-partum with glycerin.** LAVRAS: UFLA, 2001. 58p. (Dissertation – Master in Animal Science)*.

The objective was to test the effect of glycerin supplementation before calving on productive and reproductive performance of dairy cows. Experiment 1 was developed in two dairy farms, in the south of Minas Gerais. Forty-two multiparous and primiparous Holstein cows were used: 21 received a single glycerin oral dose (300ml/d) 7d before calving and 21 control were not treated. Milk production and fat content, interval from calving to 1st service and to conception, number of services per conception and conception rate up to 150 days postpartum were analysed. In experiment 2 six cows fistulated open and non-lactating cows were used. The treatments were glycerin, propyleneglycol and control. Infusions (300 ml) were done for three days, in a replicated 3x3 latin square design, with three days rest between each infusion. Infusions were done once a day. Rumen and blood samples were taken at 0, 0.5, 1.0, 1.5 e 2.0 h after infusion for pH and plasma insulin concentration analyses. Glycerin supplementation increased ($P=0.04$) milk production (24.0 vs 21.3 kg/d). Interaction between treatment and week was significant ($P = 0.003$). Parity affected ($P=0.002$), average production 19.0 ± 2.4 , 24.4 ± 2.61 and 24.5 ± 2.6 kg/d, respectively for parities 1, 2 and >3 , however, there was no interaction between parity and treatment. Milk fat content was affected by week ($P=0.08$), farm ($P=0,001$) and parity x treatment interaction ($P=0,03$). Glycerin supplementation apparently did not influence reproduction. In the experiment 2, plasma insulin concentration was different ($P=0.10$) for (11.1 ± 2.1 ; 17.9 ± 2.1 e 9.6 ± 1.8 $\mu\text{UI/ml}$, respectively for glycerin, propyleneglycol and control). There was no interaction between treatment and time ($P=0,37$) for plasma insulin concentration. Plasma insulin concentration peaked at 1.5 hours for propyleneglycol (21.5 ± 2.8 $\mu\text{UI/ml}$) and at 1 hour for glycerin (13.9 ± 2.7 $\mu\text{UI/ml}$) after infusion; control was stable after one hour (10.5 ± 2.5 $\mu\text{UI/ml}$). Treatments did not affect ($P = 0.90$) ruminal pH. It can be concluded that

*Guindance Committee: José Camisão de Souza (Adviser), Marcos Neves Pereira-UFLA; Ivo Francisco de Andrade-UFLA; Eduardo Pinto Filgueira-UFLA;

glycerin supplementation in pre-partum dairy cows may benefit milk production, probably by preventing ketosis.

1.INTRODUÇÃO

Vacas leiteiras de alta produção são mais sensíveis ao período periparto. Este intervalo é chamado período de transição, definido como sendo as 3 semanas pré- parto até 3 semanas pós-parto. O período de transição é marcado por mudanças no sistema endócrino para acomodação da parição e início da lactogênese (Grummer,1995; Bertics et al., 1994). As limitações nutricionais e de manejo durante o período de transição podem prejudicar a capacidade da vaca atingir a máxima produção de leite (Drackley,1999).

Em função da redução de 30% de ingestão de matéria seca (IMS) durante 5 a 7 dias pré-parto, a qual se estende até aos 21 dias pós-parto, quando a IMS começa aumentar, a dieta de transição torna-se necessária (Bertics et al.,1994)

A alta demanda de energia e consumo inadequado de matéria seca faz com que o animal entre em balanço energético negativo (BEN). A carência de precursores de glicose típicos do periparto de vacas de alta produção, promove a mobilização de gordura, predispondo-as a desordens metabólicas como cetose e fígado gorduroso (Grummer,1993). Tais desordens podem estar associadas com mau desempenho reprodutivo de vacas de alta produção, devido às alterações metabólicas conseqüentes do período de transição sendo elas: hipoglicemia, hipoinsulina , baixa produção de GnRH e IGF-1, menor freqüência de pulsos de LH e menor concentração de progesterona na fase luteal (Formigoni et al., 1996).

A dificuldade em proporcionar ao animal o atendimento das altas demandas energéticas do período pós-parto é a limitada capacidade de ingestão alimentar nas primeiras semanas da lactação (Vasquez-Añon et al., 1994). Como auxílio da estratégia alimentar, a adição de produtos capazes de alterar o perfil de fermentação ruminal e minimizar distúrbios metabólicos são eficazes na

melhoria dos níveis de produção e saúde dos animais, podendo ser alternativa em animais especializados

Trabalhos vêm sendo desenvolvidos com produtos que tenham a finalidade de aumentar a densidade energética da dieta através da suplementação de gorduras/lipídeos (Grummer e Carrol, 1991), suplementação de niacina, com a função antilipolítica no tecido adiposo (Skaar et al., 1989) e a monensina sódica que vem mostrando-se importante no controle do status energético de vacas recém-paridas (Duffield et al., 1999; Jüchem, 2001), além dos precursores gliconeogênicos tais como propilenoglicol (Grummer et al., 1994; Chirstensen et al., 1997; Formigoni et al., 1996; Studer et al., 1993). Os resultados com todos estes produtos ainda são inconsistentes em relação a melhoria na performance reprodutiva pós-parto, porém, a produção de leite parece apresentar bons resultados.

A administração de precursores gliconeogênicos durante o período periparto, seria uma estratégia para aumentar a concentração de glicose sanguínea, estimulando maior resposta de insulina e redução da mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo, de tal maneira que as desordens metabólicas poderiam ser minimizadas (Laranja da Fonseca, 1997; Bertics et al., 1992).

O glicerol, também chamado, glicerina, é um metabólito natural liberado através da lipólise dos triacilglicerídeos do tecido adiposo e metabolizado a glicose no fígado. Embora o glicerol possua vantagens de ausência de toxidez e potencial gliconeogênico, considerações econômicas fazem da sua utilização menos acessível como aditivo alimentar (Sauer et al., 1973; Fisher et al., 1973).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de glicerina antes do parto sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de vacas leiteiras.

2.REFERENCIAL TEÓRICO

2.1.Avaliação dos parâmetros metabólicos da vaca no período de transição

O período de transição no qual as vacas passam de não lactantes para lactantes impõe ao animal um enorme stress , podendo reduzir a IMS, produção de leite e saúde do animal .

O decréscimo de insulina e o aumento do hormônio de crescimento no plasma sangüíneo ocorre à medida que aproxima o final da gestação e o início da lactação, sendo que o pico de ambos os hormônios ocorre na parição (Kuntz et al.,1985). Estrogênio, essencialmente de origem placentária, aumenta sua concentração no plasma durante o final da gestação, mas decresce imediatamente após o parto. A concentração de progesterona durante o período seco é elevada para mantença da gestação, mas declina rapidamente 2 dias após o parto (Chew et al., 1979). As concentrações de glicocorticóides e prolactina aumentam no dia do parto e retornam a concentrações próximas ao do periparto no dia seguinte (Edgerton e Halfs,1973).

Os níveis crescentes de estradiol durante os dias finais da gestação parecem estar relacionados com a queda da IMS Bell (1995). Grummer e Carrol (1991) relatam que esta queda pode ser influenciada pelo aumento da mobilização de ácidos graxos no final da gestação, independente de mudanças na IMS e balanço energético.

Vacas leiteiras apresentam déficit de energia no início da lactação por atingirem sua máxima produção de leite, antes do consumo máximo de alimentos. Esta condição, conhecida como BEN, provoca resposta compensatória de mobilização de energia, envolvendo o tecido adiposo com aumento da lipólise e glicogênio do fígado. Ocorre, portanto, utilização de

reservas corporais de gordura (Villa-Godoy, Hughes e Emergy, 1988 ; Bertics et al.1992; Vazquez –Anon et al., 1994).

Antes do parto, mudanças nas concentrações hormonais ocorrem para promover a gliconeogênese e a mobilização do tecido adiposo procurando fornecer energia suficiente ao feto e ao desenvolvimento da glândula mamária. A elevação de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma começa 5 dias antes do parto e previamente da depressão na IMS. Isto pode sugerir que não é somente a queda na IMS o único fator que influencia a mobilização de gordura do tecido adiposo. O aumento dos hormônios lipolíticos como lactogênio placentário e prolactina no plasma antes do parto pode contribuir para o aumento de AGNE antes da depressão na IMS (Vazquez –Anon et al., 1994). As concentrações de AGNE decrescem após o parto, mas permanecem ainda maiores do que antes do parto. A concentração de AGNE no plasma duplica aproximadamente dos 17 dias aos 2 dias antes do parto, período no qual aumenta até a parição sugerindo que acumulação de triacilglicerídeos (TGs) tenha início antes do parto (Grummer, 1995; Bertics et al., 1992).

O principal destino do AGNE no fígado inclui esterificação, principalmente em TGs ou oxidação. TGs podem também ser estocados ou exportados do fígado via lipoproteínas de baixa densidade (VLDL) para o metabolismo através do tecido extrahepático como a glândula mamária. A oxidação pode ser completa para produção de CO_2 ou incompleta para produzir corpos cetônicos (CC). Conseqüentemente, existem vários locais potenciais para regulação do metabolismo de ácidos graxos hepáticos que influenciam a taxa de produção de CC e estoque de TGs. A oxidação de gordura ocorre para que o fígado encontre os requerimentos de energia, deste modo a saúde e máxima produtividade da vaca deve resultar caso a esterificação dos ácidos graxos hepáticos a glicerol for maximizada e a secreção de VLDL for suficiente para prevenir o acúmulo excessivo de TGs (Grummer e Carroll,1991; Grummer,

1993). Os ruminantes têm limitada capacidade de exportar VLDL , então a acumulação excessiva de TGs é comum durante a rápida elevação de AGNE produzido pelo fígado (Studer et al., 1993; Bertics et al., 1992).

A insulina parece ser o principal hormônio regulador do metabolismo basal. Ela inibe diretamente a gliconeogênese hepática pela redução da produção de alguns precursores de glicose e indiretamente pela redução do fluxo de nutrientes gliconeogênicos para o músculo e tecido adiposo. Alta concentração de insulina promove a síntese de proteínas e lipídios, proporcionando ganho de peso. Quando a concentração de insulina é baixa, menores quantidades de nutrientes se movem dos estoques periféricos para o fígado, onde podem ser usados para elevar a taxa da síntese de glicose (Brockman e Laarveld, 1986).

Durante o período de transição, o tecido adiposo torna-se resistente à insulina. O decréscimo na sensibilidade do tecido adiposo à insulina pode ser explicado pelo aumento na lipólise e mobilização, o que permite a conservação de glicose (Bell,1995). A resposta do tecido adiposo à insulina é alterada durante a gestação e lactação. No início da lactação a taxa de lipólise é alta, garantindo adequado fornecimento de acetato e ácidos graxos livres para síntese de leite. A redução desses nutrientes disponíveis para glândula mamária, quando a concentração de insulina é alta, reduz a síntese de lipídeos da glândula mamária (Brockman e Laarveld, 1986).

A insulina e o glucagon são hormônios pancreáticos importantes na regulação do metabolismo energético. Possuem funções opostas que contrabalanceiam suas ações: o glucagon estimula e a insulina inibe a gliconeogênese. A insulina e o glucagon também regulam a lipólise do tecido adiposo e cetogênese no fígado. O efeito estimulante da insulina sobre a lipogênese do tecido adiposo é reduzido no período periparto (Holtenius, 1993). McNamara e Hillers (1986), citados por Holtenius (1993) relatam que no período periparto, o metabolismo de gordura está adaptado para o aumento na

liberação de energia para produção de leite. A insulina inibe a lipólise, e cetogênese e aumenta a utilização de corpos cetônicos nos tecidos periféricos.

A concentração de glicose no plasma permanece estável ou aumenta durante o pré-parto com pico no momento do parto, então decresce imediatamente pós-parto. O aumento no parto pode resultar do aumento da concentração de glucagon e glicocorticóides que promovem a redução do estoque de glicogênio hepático (Vazquez –Anon et al., 1994).

Tanto a glicose como a galactose da lactose do leite procedem da glicose do sangue das vacas, sugerindo que para elaborar a lactose será necessário extrair diariamente da glândula mamária uma quantidade superior, em peso, que a quantidade de lactose presente no leite. Assim, uma vaca que produza 40kg de leite, contendo 5% de lactose necessitará de 2000g de glicose diária para síntese da lactose, além disso, é preciso glicose para oxidação na produção de energia e síntese de glicerina. Quando os níveis de glicose no sangue decrescem com a cetose, espera-se que diminua a produção de leite, porque a vaca necessitará elaborar um leite com um conteúdo constante de lactose para manter o equilíbrio osmótico com o sangue Schutz (1969), citado por Church (1993).

As estratégias importantes devem ser utilizadas no período de transição para maximizar a ingestão de energia, reduzir a mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo e prevenir a depressão de glicogênio hepático (Grummer,1995). O fornecimento suplementação de glicose e/ou precursores de glicose que altere o metabolismo para poupar a glicose sangüínea proporcionará efeito benéfico sobre a concentração sangüínea de CC e, talvez, sobre a concentração de TGs (Grummer e Carroll,1991).

2.2. Metabolismo de ácidos graxos e complexo fígado gorduroso e cetose

Durante o início da lactação, grande quantidade de energia é requerida para a manutenção dos tecidos corporais e produção de leite excedendo a quantidade de energia que a vaca pode obter de fontes dietéticas. Como resultado, a vaca precisa utilizar reservas corporais como fonte de energia. Entretanto, existe um limite da quantidade de ácidos graxos que podem ser oxidados por completo pelo ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo TCA) do fígado ou exportado do fígado como VLDL. Quando este limite é atingido, TGs acumulam dentro dos hepatócitos prejudicam sua função e da acetil-CoA que não é incorporada ao ciclo TCA (Goff e Horst, 1997).

O decréscimo na concentração sanguínea de glicose e insulina pode influenciar a potencialidade da cetose. O aumento da lipólise deve aumentar a concentração plasmática de AGNE que sobrecarrega o fígado incapaz da secreção abundante de TGs. O aumento da gliconeogênese pode influenciar a depressão do *pool* de oxaloacetato (OAA) mitocondrial, pode restringir a completa oxidação dos ácidos graxos e resultar no aumento da produção de CC e estoque de ácidos graxos como TGs (Baird et al., 1982).

O fígado tem uma limitada capacidade para oxidação dos ácidos graxos, incluindo a carência OAA para manutenção do funcionamento do ciclo TCA, para a síntese de glicose a partir do propionato e porque uma quantidade adequada de OAA favorecerá a oxidação de ácidos graxos mediante o ciclo TCA, com preferência para a formação de CC no fígado. A cetogênese poderia ser regulada no ponto de entrada do acetil-CoA, já que os altos níveis de OAA nas mitocôndrias favorece a oxidação dos ácidos graxos mais do que a formação de CC. Uma carência de precursores como o propionato pode esgotar OAA nos ruminantes (Baird, 1982).

Segundo Grummer (1993), é importante a identificar fatores que regulam a partição de 1) ácidos graxos entre a esterificação e β -oxidação, 2) ácidos graxos sintetizados a TGs estocados ou incorporados em VLDL e 3) acetil-CoA entre a síntese de corpos cetônicos e completa oxidação a CO_2 .

McGarry e Foster (1980), citados por Zammit (1990) propuseram que a concentração celular de malonil-CoA é um fator crítico para regulação da entrada do ácido graxo dentro da mitocôndria para oxidação. Malonil-CoA é produzido pela enzima carboxilase acetil-CoA e é um intermediário no caminho para síntese de ácido graxo. Altas concentrações de malonil-CoA inibem a carnitina palmitoltransferase-I (CPT-I), a enzima necessária para translocação do ácido graxo do citosol para a mitocôndria.

Brindle, Zammit e Pogson (1985) encontraram evidências de que a concentração de malonil-CoA realmente é um importante fator de regulação da oxidação de ácidos graxos em ruminantes. A CPT-I na mitocôndria do fígado de ruminantes foi tão sensível à inibição da malonil-CoA como foi a CPT-I no fígado de ratos. A concentração de malonil-CoA foi influenciada pela insulina e glucagon, indicando que o estado fisiológico e hormonal do animal pode influenciar a taxa de oxidação do ácido graxo. Condições fisiológicas que acompanham mudanças hormonais como hipoinsulina e hiper glucagon, provavelmente, resultarão na diminuição da concentração de malonil-CoA e ativação da CPT-I. Ao aumentar a taxa de oxidação de ácidos graxos e cetogênese, conduz vacas leiteiras no início da lactação a baixas concentrações hepáticas de malonil-CoA.

O metilmalonil-CoA é intermediário do metabolismo do propionato e sua concentração deverá variar de acordo com a taxa do metabolismo de propionato pelo fígado. É formado na matrix mitocondrial, e também, é gerado no citosol através do sistema carnitina aciltransferase. O fígado de pequenos ruminantes tem mecanismos para formação de CPT-I, de acordo com estado

hormonal (via malonil-CoA) e pela disponibilidade do maior substrato gliconeogênico (propionato) no trato gastrointestinal. Possivelmente, esta propriedade permite que o fígado distinga qual substrato será usado para gliconeogênese, propionato ou secundários como alanina e lactato, os quais não geram metilmalonil-CoA.

Os produtos finais da fermentação ruminal podem ter função na regulação do metabolismo de ácido graxo hepático (Armentano et al.,1991; Grummer 1993). O propionato inibe a CPT-1, via metilmalonil-CoA, porque representa um mecanismo que o distingue do efeito de diferentes precursores gliconeogênicos sobre a oxidação de ácidos graxos (Brindle, Zammit e Pogson, 1985; Armentano et al.,1991).

O propionato tem demonstrado ser anticetogênico, pois estimula a secreção de insulina a qual suprime a mobilização de AGNE. O suprimento de propionato é também um controlador para produção de glicose, que regula o balanço energético e favorecer a liberação de insulina (Drackley,1999). O lactato é um precursor gliconeogênico não metabolizado via malonil-CoA. Durante a restrição alimentar, quando a disponibilidade de propionato é limitada, mas a demanda de gliconeogênese ainda está alta, o lactato pode servir como um substrato de glicose reduzindo a cetogênese. Quando a ingestão de energia é similar ao requerimento, o fornecimento de propionato é adequado e a oxidação de ácido graxo é limitada via metilmalonil-CoA. O acetato também pode reduzir a oxidação de ácidos graxos, contudo, sua ação pode ser inibida durante a depressão da ingestão alimentar (Drackley et al., 1991).

A carnitina tem demonstrado estimular a oxidação de ácido graxo in vitro (Drackley, Beitz e Young, 1991). Carnitina geralmente decresce os efeitos dos compostos que inibem a oxidação dos ácidos graxos pelo fígado bovino, mas os mecanismos não são identificados. Estas interações e mudanças nas concentrações de carnitina, de acordo com o status fisiológico do animal,

indicam que a carnitina pode ser importante na regulação da oxidação de ácido graxo (Grummer,1993).

2.3.Considerações sobre cetose em vacas leiteiras

O fator que predispõe cetose bovina é o inadequado suprimento de energia necessário para produção de leite, que procede ao BEN, aumento da mobilização de gordura e aumento da cetogênese hepática (Baird, 1982). A severidade da cetose depende da capacidade do fígado em metabolizar elevada quantidade de ácidos graxos mobilizados do tecido adiposo (Fronk, Schultz e Hardie, 1980).

A subnutrição, quanto à produção pode ocasionar o desenvolvimento da cetose (Tveit et al., 1992), tanto quanto o supercondicionamento. Parecem ser condições que causem tal desordem, devido à intensa mobilização de gordura do tecido adiposo no início da lactação, provocando o aumento na concentração plasmática de ácidos graxos livres (Baird,1982; Fronk, Schultz e Hardie, 1980).

Bahaa et al (1997) hipotetizaram que a limitação na IMS durante a 1ª semana pós-parto deveria causar cetose. Vacas saudáveis foram alimentadas *ad libitum* nos quatro primeiros dias pós-parto; no 5º dia a alimentação foi restrita para 50 % e 25 % da ingestão *ad libitum* até o 7º dia. Cetose clínica foi diagnosticada em 8 das 10 vacas que tiveram alimentação restrita, sem diferença devido à severidade da restrição alimentar. Cinco das nove vacas controle tomaram-se cetóticas. Os resultados suportam que a susceptibilidade à cetose aumenta por fator metabólico ou fatores relacionados à IMS durante o início do período pós-parto.

Duffield et al. (1999) definiram os níveis elevados de CC circulantes na corrente sanguínea sem expressão de sinais externos que pudessem distinguir a vaca cetótica das demais como sendo a forma subclínica da cetose. Recente

estudo realizado no Canadá por Geishauser et al., (2000) mostrou que as vacas que tiveram concentrações de β -hidróxibutirato (BHBA) maiores que 1400 μ mol/L apresentaram cetose subclínica.

A cetose clínica ocorre de forma espontânea em animais de alta produção, entre a 2^a e 7^a semana de lactação. Os sintomas característicos são perdas de apetite, particularmente por concentrados, diminuição da produção e rápida perda de condição corporal (Baird, 1982). Tais sintomas são tão comuns que se confundem facilmente com os de outras desordens metabólicas que também ocorrem neste período, dificultando a identificação. Estudos mais elaborados consideram que a elevada concentração sanguínea de corpos cetônicos (0,5mM é considerada concentração mínima de acetoacetato), hipoglicemia e perda de glicogênio hepático (Baird,1982; Veenhuizen et al., 1991;Grummer,1993).

Segundo Veenhuizen et al. (1991), no experimento realizado com protocolo de indução de cetose que consistia na restrição alimentar de 15-20% e suplementação de 1,3-butanediol (precursor de corpos cetônicos), vacas foram monitoradas até desenvolver cetose 3-4 semanas, após o início do protocolo. Foi observado que a cetose subclínica é marcada por várias alterações metabólicas, existindo pequena alteração quando a vaca passa do estado de cetose subclínica para clínica. Entretanto, o decréscimo na capacidade gliconeogênica hepática tem sido utilizada para diagnóstico de cetose clínica, mas não se pode concluir que a redução no metabolismo do fígado cause na vaca mudança de cetose subclínica para clínica ou que o decréscimo da gliconeogênese seja resultado de condições existentes depois da ocorrência de cetose clínica. Também foi observado que as vacas com cetose clínica primeiramente desenvolveram fígado gorduroso e que a susceptibilidade à cetose foi relatada pela taxa de glicogênio e TGs antes e durante o tratamento.

Detilleux, Gröhn e Quaas (1994) observaram, em animais com produções maiores que 6300kg aos 305 dias de lactação, que a porcentagem de vacas com cetose clínica aumentou com a paridade e atingiu o máximo na quarta lactação com 8.9%. A porcentagem dos casos de cetose tratados foi menor na primavera e no verão do que nas outras estações do ano.

No Brasil, Magalhães e Belém (1995) analisaram 22 vacas da raça Holandesa, nas seis primeiras semanas para identificar casos subclínicos e encontraram incidência de 18,8% de casos positivos, principalmente na terceira semana. Lago (1997), no estudo com 118 vacas holandesas, relatou que a incidência de cetose subclínica foi 13,5%, tendo apenas um animal evoluído para cetose clínica. O pico de incidência ocorreu na primeira e segunda semanas de lactação, tendendo ser maior nas vacas mais velhas.

Quanto à produção, a curva de lactação das vacas que apresentaram cetose mostraram depressão no início da lactação quando comparada a vacas que não foram diagnosticadas cetóticas. Contudo, nos 305 dias de lactação, em vacas com cetose foi estimado ganho de 141,1kg a mais do que em animais livres de cetose. Embora as perdas ocorressem com o desenvolvimento da doença, vacas que apresentaram o distúrbio foram mais produtivas. No entanto, as produções poderiam ter sido ainda maiores, se a doença não tivesse se manifestado (Detilleux, Gröhn e Quaas , 1994).

As vacas com cetose subclínica produziram de 1 a 4 litros de leite menos durante o período de distúrbio (Geishauser et al., 2000). Laranja da Fonseca (1997) observou que animais cetóticos produziram em média 20,3 kg/dia, enquanto os animais considerados normais produziram 25,6 kg/dia ($P < 0,10$).

2. 4. Metabolismo e uso do propilenoglicol e glicerina

O propilenoglicol (PG) é um composto usado para o tratamento de cetose no pós-parto. A eficácia de sua utilização pode ser explicada pelas suas características de metabolismo. Grande parte do PG passa intacto no rúmen e outra parte é metabolizada para propionato no rúmen, entretanto, foi observado que, após prolongada alimentação, a flora ruminal pode ser adaptada a utilizar o PG.

Os estudos de Emergy et al.,1964 sugerem que a meia-vida do PG no rúmen ficou em torno de uma hora, sendo que 99% do PG administrado foi metabolizado, indicando possível adaptação, num período progressivo de alimentação de 24 semanas. A concentração de PG no leite foi abaixo do limite detectável (10 mg/100 ml) e não foi possível detectar na fração glicerol da gordura do leite, então, menos de 0,1% da dose foi excretada no leite. A excreção através da urina não excedeu 10 g/dia quando foram administrados 2 kg de PG/vaca/dia. A concentração no sangue também permaneceu abaixo de 10mg/100ml.

Waldo e Schultz (1960), ao administrar diferentes materiais gliconeogênicos no rúmen, observaram que o PG causou maior concentração sanguínea de glicose. Os valores de ácidos graxos no rúmen indicam considerável produção de ácido propiônico no rúmen, sugerindo que o aumento da concentração de glicose é, provavelmente, resultado do PG absorvido diretamente além da absorção dos produtos de fermentação. Em relação aos efeitos diretos no rúmen, Emergy et al. (1964) encontraram aumento da concentração de propionato que foi de 30% para as vacas tratadas e 19,1% para vacas controle, devido à administração de PG, concordando com os resultados de Waldo e Schultz (1960).

O PG que escapa da fermentação ruminal é convertido à glicose pelo fígado, diminuindo a concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados e corpos cetônicos (Sauer, Erfle e Fisher, 1973).

Studer et al. (1993) quando trabalharam com 24 vacas holandesas múltiparas gestantes e no período seco, forneceram via oral “drench” de um litro de PG uma vez ao dia, começando $10 \pm 3,6$ dias pré-parto, com a mesma quantidade de água fornecida ao grupo controle. Amostras de sangue foram coletadas nos dias 16, 17 e 7 dias antes do parto, diariamente até 3 dias após o parto e, nos dias 7, 14 e 21 dias pós-parto. A administração de PG promoveu elevação significativa da concentração plasmática de insulina no período de 15 minutos após a administração e teve pico antes do pico de glicose. A insulina plasmática não diferiu entre os tratamentos após o parto, entretanto, no pré parto a concentração de insulina foi maior nos animais que receberam PG. Quantidade significativa de PG pode ter sido metabolizada a propionato, o que estimula a secreção de insulina pelo pâncreas e PG ou intermediários do metabolismo do PG podem ser estoque direto de insulina (Harmon, 1992). Em relação a produção de leite do experimento de Studer et al. (1993) administração diária de PG não afetou a produção de leite, o grupo tratado apresentou média de 32,6 kg/dia e o controle 33,2 kg/dia ($P=0,75$).

Em outros trabalhos utilizando PG para melhoria da produção de leite, Formigoni et al. (1996) encontraram durante 90 dias de lactação, no grupo controle e nas vacas tratadas produções médias de leite similares de $37,6 \pm 2,1$ e $38,5 \pm 2,5$ kg/dia, respectivamente. Segundo Jüchem (2001), vacas não tratadas ou que receberam monensina sódica e propilenoglicol, durante o período pré-parto não demonstraram diferença ($P=0,72$) na produção de leite média de 31,1, 31,5 e 31,2 kg/dia, respectivamente.

Grummer et al. (1994) comparam os efeitos da dosagem de PG durante o período de restrição alimentar, em que foram utilizadas 8 novilhas Holandesas

num quadrado latino 4x4 com período de duração de 12 dias. As novilhas receberam via oral *drench* de 0, 296, 592 e 887 ml de PG. Doses crescentes de PG causaram aumento linear na concentração sérica de glicose e insulina ($P<0,01$ e $P<0,05$). O decréscimo na concentração plasmática de AGNE pode ter sido mediado pelo aumento na concentração do hormônio antilipolítico, insulina ($P<0,05$).

Chirstensen et al. (1997) testaram a eficácia das diferentes formas de administração do PG sobre os metabólitos plasmáticos de vacas com restrição alimentar. Utilizaram 4 novilhas gestantes com média de 79 dias antes do parto e 4 vacas com média de 84 dias antes do parto. Foi usado delineamento em quadrado latino 4 X 4 replicado com períodos de 14 dias. Os animais passaram por um período de adaptação de 7 dias e os tratamentos foram iniciados no 8º dia. Os tratamentos foram os seguintes: *drench* de PG (T_1), PG misturado ao concentrado fornecido uma vez ao dia separadamente da forragem (T_2), PG misturado à dieta total (T_3) e controle sem o fornecimento de PG (T_4). A quantidade diária de PG para cada animal foi de 2,5 ml / kg de peso corporal metabólico ($PV^{0,75}$) ao início do experimento. Nos dias 11, 12, 13 e 14 passaram por restrição alimentar simulando a diminuição da ingestão pré-parto. No dia 14 foram coletadas amostras de sangue aos tempos 0, 30, 60, 90, 180 e 330 minutos após a administração do PG. A concentração de glicose não foi alterada pela administração do PG, mas a concentração sérica de insulina foi aumentada ($P<0,01$) para as vacas que receberam T_1 ($33 \pm 3 \mu\text{UI/ml}$) e T_2 ($31,9 \pm 3 \mu\text{UI/ml}$) sendo mais eficiente do que T_3 ($24 \pm 3 \mu\text{UI/ml}$) ($P<0,01$). A interação entre tempo e tratamento indicou que T_2 e T_1 tiveram uma resposta mais longa no aumento da insulina sérica. Segundo os autores a provável explicação seria produção adicional de propionato ruminal da fermentação do amido e subsequente indução da secreção de insulina pelo pâncreas. Dados do aumento

da concentração de insulina concordam com os resultados obtidos por Grummer et al.(1994).

Sakai et al. (1993) utilizaram simultaneamente glicose e insulina como tratamento terapêutico para vacas cetóticas. Após o diagnóstico de cetose, segundo as concentrações sanguínea de glicose e corpos cetônicos, respectivamente, 42-61mg/ml e 4-31 μ g/ml em vacas saudáveis e 25-39 mg/ml e 42-109 μ g/ml em vacas cetóticas, foram diagnosticadas 15 vacas cetóticas, as quais foram distribuídas em dois grupos. O grupo 1 recebeu solução de 500ml com 50 % de glicose através de injeção intravenosa uma vez ao dia por 5 dias e o outro grupo 2 também recebeu a solução de glicose com injeção subcutânea adicional de insulina nos dias 2, 3 e 4. A concentração sanguínea de insulina foi de $3,0 \pm 0,9 \mu\text{U/ml}$ nos dias 1 e 6 no grupo 1 e, para o grupo 2, o aumento foi significativo ($P < 0,05$) de $3,0 \pm 0,8 \mu\text{U/ml}$ para $6,2 \pm 1,1 \mu\text{U/ml}$ nos dias 1 e 6, respectivamente. Em ruminantes, glicose administrada via parenteral torna-se prontamente disponível para o metabolismo. Portanto, glicose fornecida via oral é ineficiente devido à fermentação ruminal que converte carboidratos em ácidos graxos voláteis de cadeia curta (AGV) e, além disso os animais não possuem capacidade de absorver quantidades apreciáveis de glicose através do trato gastrointestinal Sauer, Erfle e Fisher (1973).

O glicerol (G) está presente naturalmente no organismo através lipólise dos triacilglicerídeos do tecido adiposo e é usado para metabolizar glicose no fígado, formar triacilglicerídeos ou oxidar até CO_2 .

Schutz (1969), citado por Church (1993), caracteriza o glicerol como terceiro composto utilizado pela gliconeogênese. Em ruminantes jejuando, a absorção de propionato decresce intensamente e o glicerol exerce grande contribuição para síntese de glicose. Durante extensiva mobilização do tecido adiposo, são fornecidos 3,2 kg/dia de TGs. O glicerol pode fornecer, aproximadamente, 15-20% da demanda de glicose nos 4 dias pós-parto

(Bell,1995), pois é fermentado rapidamente produzindo ácido propiônico como produto final da fermentação. De acordo com as condições da dieta, a quantidade de tecido adiposo mobilizado irá aumentar ou decrescer durante o início da lactação, em consequência, o fornecimento de glicerol e sua contribuição potencial para gliconeogênese dependerá da mobilização do tecido adiposo. Valores típicos da mobilização do tecido adiposo no início da lactação estão em torno de 0,5 a 1,0 kg/dia e o glicerol deverá ser responsável por 2 a 5% da demanda total de glicose (Drackley, Overton e Douglas, 2001).

A pesquisa tem focalizado precursores gliconeogênicos compostos de três e quatro carbonos que tenham em comum propriedades de boa palatabilidade, facilidade em misturar-se ao concentrado baseado em grãos, razoável custo e resistência à fermentação microbiana no rúmen (Sauer, Erfle e Fisher ,1973).

2. 5. Restabelecimento da reprodução no pós-parto

Correlações entre parâmetros reprodutivos e medições de produção de leite indicam que a alta produção está associada fenotipicamente e geneticamente com redução na performance reprodutiva das vacas em lactação, pois estudos mostram que o atraso na atividade ovariana e redução na taxa de concepção provêm da demanda de altas produções. Entretanto, decisões diárias de manejo para obtenção da eficiência da performance reprodutiva tem considerável impacto. O manejo pode compensar a depressão da fertilidade, porque rebanhos de alta produção freqüentemente encontram-se em menores dias em aberto (Nebel e McGilliard, 1993).

Segundo Formigoni et al. (1996), o controle de retomada do ciclo estral no pós-parto das vacas é realizado por uma complexa relação entre o hipotálamo, pituitária e ovário, influenciada por sinais externos (nutrição) e

internos (hormônio luteinizante- LH, prostaglandina, $PGF_{2\alpha}$, IGF-I). O efeito da nutrição sobre a reprodução pós-parto depende largamente das diferenças nutricionais antes e depois do parto.

Grummer e Carrol (1991) verificaram que a taxa de concepção pode melhorar, assim como o número de ciclo estral pode aumentar, isto pode ser razão para assumir que estratégias alimentares que acelerem o início do ciclo ovulatório venham melhorar a performance reprodutiva. A função luteal pode influenciar a fertilidade através da concepção e sobrevivência do embrião. O BEN observado no período pós-parto induz a baixas concentrações de LH causadas pela baixa frequência do padrão pulsátil da secreção de LH.

Butler e Smith (1989) reportaram que vacas leiteiras em BEN tiveram perfis de LH similares, mas ovularam mais tarde do que as vacas em balanço energético positivo (BEP).

O resultado do BEN e a taxa de mobilização de gordura parecem estar relacionados diretamente com o intervalo pós-parto à primeira ovulação e baixa taxa de ovulação. Atraso no início da atividade ovariana normal e o limitado número de ciclo estral depois da parição pode ser reponsável pelo decréscimo observado na fertilidade. O BEN, provavelmente, atua de modo similar à subnutrição e pode gerar atraso na atividade ovariana em função da interferência sobre a secreção pulsátil de LH (Butler e Smith, 1989).

Canfield e Butler (1991) afirmaram que a retomada secreção pulsátil de LH não ocorre até o animal atingir o decréscimo máximo do estado energético, que deve ocorrer em torno dos 21 dias pós-parto quando se tem aumento na IMS (Bertics et al., 1992).

O decréscimo na secreção de progesterona ocorre com a limitada função luteal e insuficiente suporte luteal do útero durante o início da gestação podendo ser uma das causas do decréscimo da taxa de concepção. O BEN é uma fonte potencial da infertilidade e pode sofrer influência da IMS. Vacas com BEP

nas doze primeiras semanas pós-parto tiveram maior concentração de IGF-1 sérica e secreção de progesterona na fase luteínica do que aquelas em BEN (Spicer, Tucker e Adams, 1990).

A melhoria na fertilidade em bovinos tem sido associada com alta concentração circulante de progesterona durante a fase luteal antes e depois da inseminação (Grummer e Carroll, 1991). Segundo Villa-Godoy et al. (1988), o impacto severo BEN no início da lactação influencia potencialmente a atividade ovariana neste período. Vacas no maior BEN durante os nove primeiros dias da lactação (<-6Mcal/Kg) tiveram menor progesterona secretada no leite durante o 2º e 3º ciclo estral do que as vacas com zero ou próximo do BEN (-.1 a 3,0Mcal/d). Todavia, não há correlação entre o BEN e a quantidade de progesterona secretada no leite quando observada durante o primeiro ciclo estral pós-parto. Entretanto, não houve efeito de BEN sobre a função luteal de 40 até 70 dias pós-parto.

Segundo Staples, Thatcher e Clark (1990) o severo BEN, durante a 2ª e 3ª semana pós-parto, pode ter provocado carência da atividade ovariana para os animais que apresentaram períodos mais longos do que 63 dias à primeira ovulação.

Schillo (1992) observou que, em curtas infusões de insulina no sistema cerebroventricular de ovelhas ovariectomizadas, não se obteve elevação de LH durante subnutrição e se inibiram a liberação de LH durante a ingestão alimentar *ad libitum* sugerindo que a insulina pode não atuar como um mediador dos efeitos da nutrição sobre a liberação de LH e conseqüente reprodução.

Hileman et al.(1991) observaram no primeiro experimento que, em infusão endovenosa de 2-deoxy-d-glicose (2-DG), inibidor da glicólise, não se influenciou o padrão de LH, o que pode ter ocorrido porque os animais tinham mobilizado e oxidado ácidos graxos, então, produzindo CC que são usados pelo

cérebro para o metabolismo energético e manutenção da secreção pulsátil de LH. No segundo experimento, ovelhas ovariectomizadas foram tratadas com 2-DG) por 18 horas, mas foi aplicada injeção de metilpalmixirato (bloqueador da oxidação de ácidos graxos), possivelmente, no momento em que começou a mobilização de gordura. Esta combinação de drogas anulou a secreção pulsátil de LH. Isto confirma que os neurônios controladores da liberação pulsátil de LH são sensíveis à disponibilidade de substratos metabólicos oxidáveis, podendo mediar os efeitos da nutrição sobre a atividade reprodutiva.

Canfield e Butler (1991) perceberam que os níveis circulantes de AGNE foram altos quando a atividade reprodutiva de vacas em lactação foi reduzida. Estienne et al.(1989) propuseram que AGNE podem inibir a liberação de LH durante período de nutrição inadequada e avaliaram os efeitos de AGNE sobre o padrão de LH em ovelhas peripuberais depois da ovariectomia. Em ambos os casos, infusão de lipídios por 8 horas elevaram as concentrações circulantes de AGNE a níveis semelhantes aos exibidos pelas ovelhas subnutridas, não havendo efeito sobre o padrão de LH.

Segundo Schillo (1992), estas observações indicam que AGNE podem influenciar a função neuroendócrina, mas não atuam como moduladores na secreção de LH em ruminantes. Harrison et al. (1990) reportou que BHBA e AGNE estão correlacionados negativamente com o balanço energético e sugeriu que podem fornecer indicações do status energético geral do animal. Tanto as concentrações de BHBA quanto de AGNE não foram associadas com os dias à primeira ovulação ou dias ao primeiro estro visível. A resposta ovariana progressiva em relação ao aumento do balanço energético pode ser explicado pela elevação da concentração de IGF-1, que está relacionado ao aumento de LH.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Experimento 1

O experimento foi conduzido em duas granjas leiteiras, uma localizada no município de Perdões e a outra, no município de Nepomuceno-MG.

Foram utilizadas 42 vacas Holandesas múltiparas e primíparas, com partições previstas para setembro de 2000 a janeiro de 2001; a coleta de dados estendeu-se até o mês de maio de 2001. Foram consideradas múltiparas as vacas acima da 2ª paridade.

Na fazenda 1, localizada em Perdões, foram utilizadas 26 vacas, sendo 16 múltiparas e 10 primíparas e, na fazenda 2, localizada em Nepomuceno, foram utilizados 16 animais, sendo 12 múltiparas e 4 primíparas; totalizando 14 primíparas e 28 múltiparas .

Em média, 7 dias antes da data prevista do parto até a sua data efetiva , houve o fornecimento diário e via oral de 300ml de glicerina ao grupo tratado (n=21) e o grupo controle (n=21) não recebeu. A previsão de parto ocorreu em função de 273 dias de gestação.

A glicerina utilizada foi obtida da indústria Química do Brasil- Rua Olímpio de Oliveira nº178 - São Paulo. Sua administração via oral foi realizada por meio de seringas de 50 ml com 6 doses consecutivas, no final da tarde por um funcionário de cada fazenda que teve a gentileza de auxiliar na condução prática do experimento.

Antes do parto os animais permaneceram em piquetes gramados, recebendo alimentação com silagem de milho e concentrado, segundo o manejo da fazenda. Após o parto, as vacas foram conduzidas para o estábulo do tipo *free-stall*, em que continuaram recebendo a mesma alimentação de acordo com suas necessidades pós-parto.

3.1.1. Produção e Teor de gordura do leite

A produção de leite foi avaliada através da pesagem de 2 ordenhas diárias, com início no 7^a dia pós-parto. As pesagens foram semanais, num período de 56 dias com 8 amostras por animal. A amostra para determinação da porcentagem de gordura foi retirada no mesmo período. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura, baseada na pesquisa de Tyrrel e Reid (1965), na equação específica de Stoddard (1980):

$$PLC_{3,5\%} = 0,432 * PL + 16,23 * PG$$

em que :

PLC_{3,5%} = Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura

PL = Produção de leite kg/dia

PG = Produção de gordura em kg/dia

O teor de gordura das amostras de leite foi determinado pelo método butirométrico de Gerber, descrito por Brasil (1981). Este procedimento foi realizado no Departamento de Ciências dos Alimentos (DCA) no Laboratório de Laticínios da UFPA.

3.1.2. Índices reprodutivos

Para cada vaca foram calculados os intervalos do parto ao 1^o serviço e do parto à concepção (dias abertos) e o número de serviços até a concepção.

3.1.3. Análises Estatísticas

As variáveis medidas semanalmente foram analisadas como medidas repetidas pelo procedimento MIXED do sistema SAS[®] Statistical Analysis System (S.A.S, 1995; Littell et al., 1996). A estrutura de covariância utilizada foi

aquela com maior valor para critério de informação de Akaike, considerando as estruturas CS (simetria composta), UN (não estruturada) e AR1 (auto regressiva de ordem 1). A análise da produção de leite e gordura no leite foi realizada utilizando-se a estrutura de covariância “AR 1”: segundo o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + p_i + f_j + s_k + t_l + t_l * p_i + t_l * f_j + t_l * s_k + e_{ijkl}, \text{ onde:}$$

μ = média geral;

p_i = efeito da paridade (i= 1 e 2);

f_j = efeito da fazenda (j= 1 e 2);

s_k = efeito da semana (k= 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8);

t_l = efeito do tratamento (l= glicerina e controle);

$t_l * p_i$ = interação entre tratamento e paridade;

$t_l * f_j$ = interação entre tratamento e fazenda;

$t_l * s_k$ = interação entre tratamento e semana;

e_{ijkl} = erro experimental .

Vaca dentro da interação entre tratamento e fazenda foi o erro usado para testar o efeito de tratamento.

Na análise foi usado o comando “random” do programa SAS, para eliminar o efeito de época, já que os animais foram blocados de acordo com a data de parição. Cada bloco foi composto de dois animais, um recebendo glicerina e o outro, controle, sendo cada bloco de determinada fazenda a qual pertencem os animais. O bloco dentro de fazenda foi considerado um efeito aleatório.

Os índices reprodutivos foram analisados pelo procedimento GLM do sistema SAS[®] - Statistical Analysis System (S.A.S, 1995). O modelo seguinte foi usado para as variáveis: dias do parto ao 1º serviço, número de serviços até a concepção e intervalo do parto à concepção. A taxa de concepção aos 150 dias após a data do parto foi considerada variável discreta, utilizou-se o teste Qui-quadrado.

$Y_{ijk} = \mu + p_i + f_j + t_k + t_k * p_i + t_k * f_j + e_{ijk}$ onde:

μ = média geral;

p_i = efeito da paridade ($i=1$ e 2);

f_j = efeito da fazenda ($j=1$ e 2);

t_k = efeito do tratamento (k = glicerina e controle);

$t_k * p_i$ = interação entre tratamento e paridade;

$t_k * f_j$ = interação entre tratamento e fazenda;

e_{ijk} = erro experimental, assumindo como independente e identicamente distribuído em distribuição normal com média μ e variância σ^2 .

3.2. Experimento 2

Foram utilizadas três vacas da raça Jersey e três vacas da raça Holandesa, não lactantes, com cânulas ruminais implantadas cirurgicamente no saco dorsal do rúmen. Os animais foram abrigados e alimentados individualmente em baias com cama de areia. Os animais foram alimentados com forragem, não havendo o fornecimento de concentrado. O experimento foi realizado no setor de bovinocultura de leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Os animais foram alocados aleatoriamente dentro de cada raça em três tratamentos: T_1 =300ml de glicerina (fornecimento idem ao experimento 1); T_2 =300ml de propilenoglicol (Jofadel Indústria Farmacêutica-Av.J.F.Vasconcelos, nº100 – Varginha- MG) e T_3 =controle. A infusão dos tratamentos foi replicada por três dias observando intervalo de três dias entre cada infusão. Cada infusão foi realizada somente uma vez ao dia. O modelo de quadrado latino foi usado para eliminar o efeito do animal, o tempo zero foi utilizado como covariável para ajuste do modelo.

Amostras de sangue no dia de cada infusão foram obtidas 0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 horas após a infusão dos tratamentos. O sangue foi retirado dos vasos coccígeos e colocados em tubos (VacuntainerTM, Becton Dickiston and Co, Centerlab- Av. Nossa Senhora de Fátima nº 2343-Belo Horizonte-MG) heparinizados, com capacidade para 10ml. As amostras foram resfriadas e após as coletas, centrifugadas (1000xg durante 10 minutos), para retirada do plasma que foi armazenado em tubos a -20°C para posterior análise de insulina.

Amostras de fluido ruminal em cada dia de coleta foram obtidas durante os mesmos tempos da coleta de sangue. Foi introduzido um becker com capacidade para 100ml, tampado pela mão, no saco ventral do rúmen. Filtrou-se o fluido ruminal em gases e após homogeneização, mediu-se o pH em um medidor portátil (pH-meter CG 837, Schott Geräte).

3.2.1. Dosagens de insulina plasmática

A insulina foi dosada por radioimunoensaio em fase sólida pelo procedimento modificado por (Studer et al., 1993) e adaptado por Rezende Júnior (1999) do Kit Coat-a-Count[®] (DPC MEDLAB PRODUTOS MÉDICO – HOSPITALARES LTDA, São Paulo, SP), marcado com Iodo radioativo (¹²⁵I). Foram adicionados ao frasco de insulina iodada concentrada [3u Ci(111 kBq)] 100 ml de água destilada. Misturou-se gentilmente por inversão, em seguida.

Ao conjunto de calibradores rotulados de A a G, sendo o calibrador A (padrão concentração zero de insulina) foram adicionados 6 ml de água destilada. Aos calibradores de B a G, com concentrações padrões de insulina de 5, 15, 50, 100, 200 e 400 µUI/ml, respectivamente, foram adicionados 3ml de água destilada. Os calibradores foram divididos em frascos com quantidades suficientes para serem realizados dois ensaios.

Os tubos de polipropileno recobertos com anticorpos anti-insulina, forma rotulados de A a G em duplicatas. Os tubos que receberam as amostras de plasma também foram rotulados em duplicatas. Um tubo, chamado de tubo T, foi utilizado para contagem total da radioatividade do ^{125}I .

Em cada tubo das amostras de plasma, foram adicionados 300 μl de plasma e 1ml de insulina iodada. Foram usadas pipetas volumétricas para todos os procedimentos. Ao tubo T foram adicionados 1,3ml de insulina iodada.

Os tubos, devidamente identificados, foram preparados para receber os calibradores (Tabela 1).

TABELA 1: Preparação dos calibradores utilizados no procedimento de radioimunoensaio na dosagem da insulina plasmática.

Tubos identificados como calibradores e utilizados para o padrão	Quantidade do respectivo padrão (μl)	Quantidade do padrão zero (A) (μl)	Concentração de insulina padrão obtida $\mu\text{UI/ml}$
A	300	-	0
B	200	100	3,3
C	200	100	9,9
D	200	100	33
E	200	100	66
F	200	100	132
G	200	100	264

Os tubos foram mantidos em temperatura ambiente por 22 horas para posterior leitura.

A leitura da radioatividade gama foi feita em um contador Gamma Cord Brand-AMES, no Laboratório de Análises Clínicas Santa Cecília, em Lavras-

MG. O líquido dos tubos foi desprezado e estes deixados para máxima decantação na posição invertida sobre o papel absorvente, (exceto do tubo T), a leitura iniciada pelos calibradores e, posteriormente, nas amostras. Duas medições foram executadas em cada tubo e o valor médio entre as leituras utilizado para as análises.

Para cada ensaio, estimou-se a porcentagem de ligação entre a insulina iodada e os anticorpos, pois a insulina marcada com ^{125}I compete com a insulina da amostra. Sendo assim, quanto maior for a ligação da insulina iodada menor será a quantidade de insulina da amostra. A fórmula utilizada para o cálculo foi:

$$\% \text{ de ligação} = \frac{\text{CPM dos calibradores de B a G}}{\text{CPM do calibrador A (máxima ligação)}} \times 100$$

Foi feita uma transformação logarítmica para se obter regressão linear, utilizando o número transformado = $\log (\% \text{ ligação} / 1 - (\% \text{ de ligação}))$.

A reta de regressão foi traçada plotando os números transformados no eixo das abcissas e o logaritmo das concentrações dos calibradores de B a G (log de 3,3; 9,9; 33; 66; 132; 264) no eixo das ordenadas. A equação de regressão obtida foi utilizada para estimar o logaritmo da insulina plasmática e posterior transformação deste número na concentração de insulina.

Dois ensaios foram necessários para dosagem de todas as amostras, as quais foram analisadas ao acaso, utilizando amostras dos três períodos. A variação entre-ensaio foi de 19,0 %. Esta foi calculada baseada nos resultados obtidos de um *pool* de todas as amostras de plasma de cada ensaio. Este *pool* foi feito em ambos ensaios. A variação intra-ensaio, baseada na duplicata de cada amostra de plasma, foi de 6,4% no ensaio 1, e 0,1% no ensaio 2. O R^2 reta de regressão do ensaio 1 foi 0,92 e no ensaio 2 foi de 0,97. Gráficos referentes a equação de regressão para cálculo das concentrações de insulina plasmática estão presentes no Apêndice.

3.2.2. Análises estatísticas

A insulina plasmática e o pH ruminal nos períodos de 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 foram analisados como medidas repetidas, pelo procedimento MIXED do modelo estatístico SAS- Statistical Analysis System (Little et al., 1996). A estrutura de covariância utilizada foi aquela de maior valor para o critério de Akaike, considerando as estruturas CS (simetria composta), UN (não estruturada) e AR1 (auto regressiva), sendo utilizada a estrutura de covariância “CS”, segundo o seguinte modelo:

$$Y_{ijklw} = \mu + cv + q_k + v_j(q_k) + p_l + t_i + c_w + t_i * c_w + e_{ijklw},$$

onde:

μ = média geral

cv = Efeito da covariável

q_k = Efeito de quadrado ($k=1,2$)

$v_j(q_k)$ = Efeito da vaca j dentro do quadrado k ; com $j=1,2, 3, 4, 5, 6$;

p_l = Efeito do período ($l=1, 2, 3$)

t_i = Efeito do tratamento (i =glicerina, propilenoglicol e controle)

c_w = Efeito do tempo de coleta ($w= 0,5, 1,0, 1,5$ e $2,0$)

$t_i * c_w$ = Efeito da interação entre tratamento e tempo de coleta.

e_{ijklw} = Erro residual

A interação entre vaca*quadrado*período*tratamento foi utilizada como o erro para testar o efeito de tratamento.

As comparações foram estabelecidas utilizando-se contrastes previamente definidos: **contraste 1** = controle versus glicerina e propilenoglicol ; **contraste 2** = glicerina versus propilenoglicol ; **contraste 3** = controle versus glicerina e **contraste 4** = controle versus propilenoglicol.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento 1

4.1.1. Produção de leite

Houve efeito significativo ($P > 0,10$) do tratamento, semana e da interação tratamento e semana sobre a produção de leite (Tabela 1).

TABELA 1: Média geral da produção de leite e porcentagem de gordura do leite de vacas leiteiras pré-parturientes submetidas a suplementação com glicerina com seus respectivos EPM e probabilidades.

	Tratamentos		EPM	Probabilidades		
	Controle	Glicerina		T	S	T*S
Produção de leite (kg/d)	21,3	24,0	2,5	0,04	0,08	0,03
Gordura do leite (%)	3,09	3,02	0,09	0,60	0,0005	0,20

*Erro Padrão da Média

T= Tratamento, S= Semana, T*S= interação entre tratamento e semana

Foi observado efeito entre os tratamentos na primeira semana pós-parto, aumentando a produção de leite em 5,2 kg/dia (22,5 %) no grupo tratado com glicerina, quando comparado ao grupo controle (Figura 1).

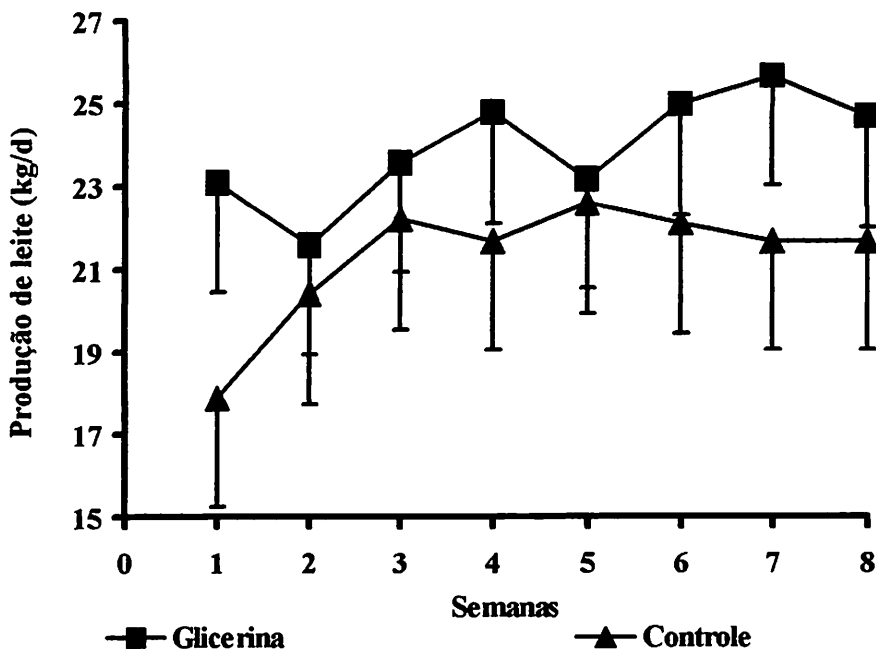


FIGURA 1. Produção de leite (kg/d) em vacas leiteiras pré-parturientes submetidas a suplementação com glicerina ($P=0,04$ para efeito do tratamento; $P=0,08$ para efeito da semana; $P=0,03$ e para interação entre tratamento e semana).

Os dados em relação à produção de leite com o uso de PG estão sendo melhor investigados, contudo existe uma tendência de melhora da produção quando este é usado na suplementação de dietas no período pré e pós-parto. A maior parte dos resultados existentes na literatura são relacionados ao efeito do PG, pois dados com glicerina são quase inexistentes. Por este motivo, a utilização dos resultados com o uso de PG serviu como base de comparação para os resultados obtidos no presente trabalho, devendo-se, portanto, guardar as devidas restrições quando comparações são efetuadas, face às possíveis diferenças entre os dois produtos.

Fisher et al. (1973) no experimento 1 não encontraram diferenças na produção de leite, no qual havia, além do grupo controle, três tratamentos concentrados com 3 % e 6 % de glicerol (G) e 3 % de propilenoglicol (PG),

sendo as produções médias de 25, 8 kg; 24, 3 kg; 25, 1 kg/dia respectivamente e de 25, 4 kg/dia para o grupo controle. Esses dados não estão compatíveis com os dados do presente experimento, pois a glicerina demonstrou maior efeito na 1^a, 4^a e 7^a semana de lactação, com pico de produção na 7^a semana e uma pequena queda na 8^a semana. No grupo controle a maior produção foi obtida na 3^a semana e estabilidade até a 8^a semana pós-parto. Durante todas as semanas o grupo tratado teve as maiores produções quando comparado ao grupo controle. Laranja da Fonseca (1997) encontrou maior produção de leite ($P < 0,05$) 28,5 e 29,1 kg/dia, respectivamente na 6^a e 7^a semanas de lactação no grupo tratado com PG, assemelhando-se aos resultados deste experimento de 25,1 e 25,7 kg/dia, durante as mesmas semanas ($P < 0,05$).

Studer et al. (1993), Formigoni et al. (1996) e Jüchem (2001), utilizando PG, não encontraram diferenças significativas em relação à produção de leite, porém os animais tratados com PG tenderam ($P < 0,10$) a apresentar maior produção de leite.

Num segundo experimento de Fisher et al. (1973), a produção de leite aumentou ($P < 0,10$) no grupo controle e suplementados com 3%, 6% e 9% de PG, sendo as produções médias durante as oito primeiras semanas de lactação de 21,9, 23,7, 24,1, 22,0 kg/dia, respectivamente. Estes resultados concordam com as presentes observações de que os melhores resultados em relação à produção de leite são obtidos durante as primeiras semanas pós-parto, visto que neste período o animal tem maior exigência nutricional devido ao aumento na produção de leite. Por outro lado, vacas, principalmente de alta produção, neste período demonstram baixa capacidade de ingestão alimentar, o que resulta em mobilização de gordura de reservas corporais, ocasionando transtornos no metabolismo energético e, conseqüentemente, os animais tornam-se mais susceptíveis a distúrbios metabólicos e doenças infecciosas. Sendo assim, práticas alimentares ou alternativas de manejo, como a suplementação com

gliconeogênicos, que otimizem a ingestão alimentar têm sido encontrados bons resultados.

Cerca de 90% dos casos de cetose subclínica são diagnosticados nos dois primeiros meses pós-parto e a prevalência de cetose tem pico entre a segunda e terceira semanas pós-parto (Geishaseur et al., 2000). Os precursores gliconeogênicos tem demonstrado maior eficiência na prevenção de cetose durante este período.

De acordo com os resultados obtidos em relação ao aumento da produção de leite, a suplementação de glicerina em animais de alto potencial leiteiro pode ser benéfica, visto que a queda de produção no início da lactação pode prejudicar a lactação total. A dose recomendada para o propilenoglicol é de 300 ml, entretanto, para glicerina não há observações, sendo assim o aumento na dose poderia causar melhor desempenho de produção, devendo-se atentar ainda ao custo do produto que, para as condições nacionais, pode ser menor que o propilenoglicol.

A paridade afetou ($P=0,002$) a produção de leite, apresentando médias gerais de produção $19,0 \pm 2,4$; $24,4 \pm 2,6$ e $24,5 \pm 2,6$ kg/dia para as paridades 1, 2 e 3, respectivamente. As médias de produção de leite e teor de gordura por paridade estão apresentadas na Tabela 2. A produção de leite foi semelhante entre as paridades 2 e 3, entretanto, a paridade 1 apresentou menor produção em relação às demais. Fisiologicamente vacas primíparas ainda apresentam menor capacidade de produção de leite, provavelmente devido a estarem em crescimento durante a primeira lactação, o que possivelmente pode explicar a menor resposta desta categoria aos tratamentos. De forma semelhante, Kauppien (1983) e Gustafsson, Andersson e Emanuelson (1993) demonstraram que as primíparas apresentaram menor produção do que as múltiparas ($P<0,001$), assim como foi a prevalência de cetose, embora esta não tenha sido determinada no presente estudo.

TABELA 2: Média geral da produção de leite e porcentagem de gordura do leite dos aniamis de paridade 1, 2 e 3, submetidas à suplementação com glicerina com seus respectivos EPM e probabilidades.

	Tratamentos						EPM	Probabilidades		
	Controle			Glicerina				T	P	T*P
	P1	P2	P3	P1	P2	P3				
Produção de leite (kg/d)	18,4	22,3	23,2	19,6	26,5	25,8	2,7	0,04	0,002	0,65
Gordura do leite (%)	2,8	3,2	3,1	3,2	2,8	3,1	0,16	0,60	0,67	0,03

*Erro Padrão da Média

P1= Paridade 1, P2= Paridade 2, P3= Paridade 3, T= Tratamento, P= Paridade, T*P= Interação entre tratamento e paridade

Adicionalmente, confirmando os resultados observados neste experimento, Deutilleux, Gröhn e Quaas (1994) detectaram menores produções de leite para os animais de paridade 1 em relação às demais e a porcentagem de vacas com cetose subclínica, coincidentemente, aumentou com a paridade atingindo o máximo na 4ª lactação.

Considerando os resultados acima, parece ser razoável não priorizar o uso de gliconeogênicos para vacas primíparas, pelo menos nos níveis de produção estudados. É possível que animais primíparos de produção mais elevada possam se beneficiar dos tratamentos.

Houve efeito ($P=0,003$) da interação fazenda e tratamento sobre a produção de leite (Tabela 3). Esse efeito possivelmente pode ser explicado pela capacidade individual de cada animal, já que o manejo e a nutrição das duas fazendas foram semelhantes. A fazenda 2 apresentou maior produção de leite no grupo tratado com glicerina, o qual era composto na grande maioria de vacas de múltiparas, que normalmente apresentam maior capacidade de produção.

Uma possível explicação da eficácia da ação da glicerina, pode ser o fato de que as vacas de maior produção são menos capazes de metabolizar energia suficiente para suprir a demanda da produção de leite (Deutillux, Grönh e Quaas, 1994 e Baird, 1982).

TABELA 3: Média geral da produção de leite e porcentagem de gordura do leite de vacas leiteiras pré-parturientes submetidas à suplementação com glicerina com seus respectivos EPM e probabilidades.

					EPM*	Probabilidades		
	Fazenda 1		Fazenda 2		T	F	T*F	
	G	C	G	C				
Produção de leite ¹	21,6	23,3	26,4	19,4	3,2	0,04	0,92	0,003
Gordura do leite ²	3,2	3,4	2,9	2,7	0,13	0,60	0,001	0,17

*Erro Padrão da Média

G=glicerina; C=controle; T=tratamento; F=fazenda; T*F=interação tratamento e fazenda;

¹(kg/dia) ; ² (%).

O experimento foi conduzido durante a primavera-verão, estações quentes do ano, nos quais o estresse térmico provoca desconforto animal e aumenta a susceptibilidade a problemas de desempenho o que ocasiona queda na produção de leite. Estas condições são possíveis explicações de uma queda de produção observadas neste trabalho. Na fazenda 1, as vacas permaneciam o tempo integral no *free-stall* e na fazenda 2 passavam somente a noite no *free-stall*, mas pela manhã, após a ordenha, eram conduzidas para piquetes sombreados proporcionando-lhes ambiente confortável. Possivelmente, as vacas da fazenda 1 sofreram de estresse térmico o que pode ter ocasionado queda de

casco também podem causar queda de produção, entretanto a observação deste parâmetro não foi considerada no trabalho.

Finalmente, em suporte aos presentes achados, Hooven et al. (1969) concluíram que a suplementação de produtos com propriedades anticetogênicas, como PG ou glicerol, resultam na alteração das proporções de ácidos graxos voláteis no rúmen e decrescem corpos cetônicos no sangue. Isto contribui para redução na incidência de cetose nas primeiras semanas pós-parto e conseqüentemente, melhora a produção de leite neste período, o que ocorreu neste trabalho.

4.1.2. Gordura do Leite

Houve efeito significativo ($P < 0,01$) de semana, da fazenda (Tabela 1) e da interação paridade e tratamento (Tabela 2) sobre a porcentagem de gordura no leite

Na primeira semana a porcentagem de gordura do grupo que recebeu glicerina teve pico de $3,8 \pm 0,18 \%$, diminuindo para $2,6 \pm 0,18 \%$ na 5ª semana, aumentado em seguida. O grupo controle apresentou maiores porcentagens de gordura na 1ª e 3ª semanas, $3,4 \pm 0,18 \%$ e $3,3 \pm 0,18 \%$, respectivamente. Após a 3ª semana foi observada estabilidade até a 8ª semana (Figura 2).

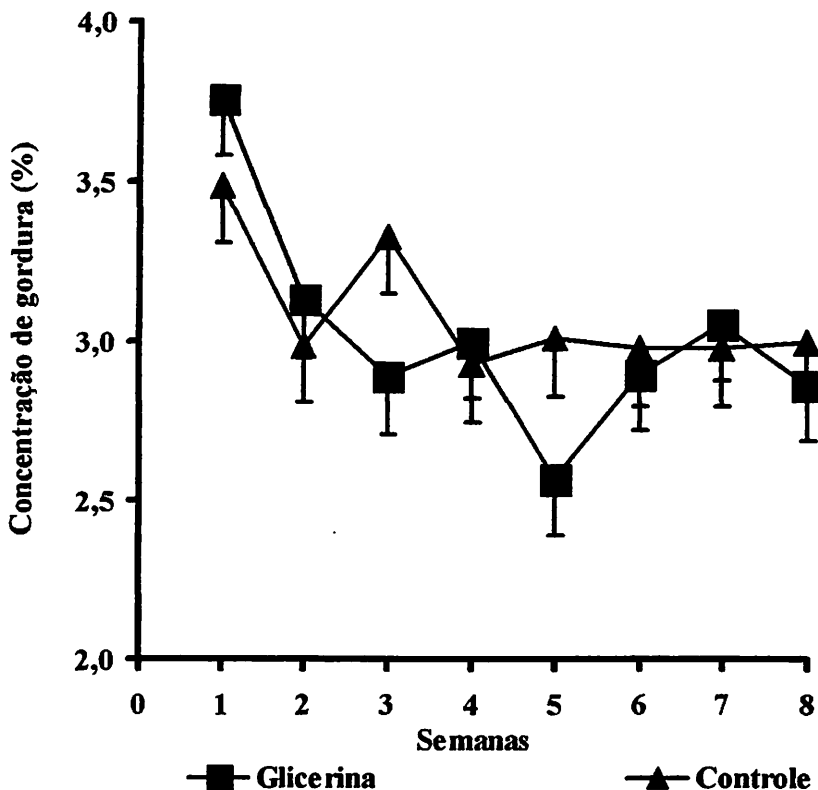


FIGURA 2. Concentração de gordura no leite (%) em vacas Holandesas pré-parturientes, submetidas à suplementação com glicerina ($P=0,60$ para efeito do tratamento; $P=0,0005$ para efeito da semana e $P=0,23$ para interação entre tratamento e semana).

Com relação ao aumento do teor de gordura na 1^o semana, as vacas em BEN produzem leite com teores mais altos de gordura (Stelwagem et al., 1992), pois alguns dos precursores (ácidos graxos de cadeia longa) são oriundos dos lipídeos circulantes no sangue, derivados da dieta e do tecido adiposo mobilizado no período pré e pós-parto, o que explica o efeito da semana no presente experimento. Baseando-se nesses dados, a glicerina não afetou a

mobilização de gordura já que não houve efeito do tratamento sobre o teor de gordura do leite, um indicador do status energético do animal.

Contudo, de maneira geral a fazenda 2 apresentou maior produção de leite no grupo tratado com glicerina e menor teor de gordura (2,8%), demonstrando que quanto maior foi a produção de leite menor foi o teor de gordura no leite.

Não houve efeito ($P > 0,01$) do tratamento sobre a porcentagem de gordura. Diferindo deste resultado, Fisher et al. (1973) observaram maior ($P < 0,005$) porcentagem média de gordura no leite em vacas que receberam concentrado contendo 3% de glicerol, durante a 1^a, 4^a e 7^a semanas do experimento. Adicionalmente, Fisher et al. (1973) observaram que a suplementação de PG diminuiu a porcentagem de gordura no leite durante as 8 semanas pós-parto. Com 6% de PG no concentrado, verificaram menores porcentagens de gordura no leite, na 1^a, 4^a e 6^a semana.

Nos trabalhos de Studer et al. (1993) e Formigoni et al. (1996), utilizando PG, não houve efeito significativo do tratamento sobre a porcentagem de gordura no leite. De maneira geral os resultados de outros autores indicam efeitos variáveis de suplementação de anticetogênicos sobre o teor de gordura no leite.

Possivelmente devido à adaptação da microbiota ruminal, segundo observações de Emery et al. (1964), aos produtos gliconeogênicos utilizados nos trabalhos estudados e neste experimento, estes animais aumentam a produção de propionato, reduzindo a possibilidade de alterações na gordura do leite em relação a animais não tratados.

Houve efeito ($P = 0,03$) da interação entre paridade e tratamento sobre o teor de gordura, contrastando com o efeito ($P = 0,65$) da interação entre paridade e tratamento sobre a produção de leite (Tabela 2). Sendo assim, conclui-se que a ausência deste efeito interativo indica que diferentemente da produção de leite,

a composição do leite não é alterada, devido à inclusão de suplementações gliconeogênicas no pré-parto, nos moldes deste experimento, mas devido ao volume de produção. Quanto menor foi a produção de acordo com a paridade, maior foi o teor de gordura, confirmando que, com o aumento de produção, ocorre queda do teor de gordura do leite, pois a concentração de lipídeos é diluída pelo volume de produção.

4.1.3. Índices Reprodutivos

Os intervalos do parto ao 1º serviço e à concepção, e o número de serviços por concepção não diferiram ($P>0,01$) entre os tratamentos (Tabela 4), discordando parcialmente dos dados de Laranja da Fonseca (1997), que utilizou PG no pré-parto.

A paridade e a interação entre tratamento e fazenda influenciaram ($P<0,04$ e $P<0,07$, respectivamente. Tabela 4) o intervalo do parto a concepção que foi de $145,0 \pm 17,1$ ($n=8$) e $101, 1 \pm 11,3$ ($n= 14$) dias, para primíparas e múltiparas, respectivamente, demonstrando assim que as primeiras possivelmente foram mais sensíveis aos transtornos ocasionados no pós-parto. Em relação à interação entre fazenda e tratamento, os resultados foram contraditórios, visto que na fazenda 1 o grupo tratado apresentou maior intervalo de dias do parto à concepção; já na fazenda 2 o grupo tratado apresentou menor intervalo, ainda que tenha tido maior produção de leite. Sendo assim pode-se hipotetizar que, além da capacidade produtiva da categoria animal, detalhes de manejo, não abordados neste trabalho, influenciam a resposta ao tratamento.

Segundo Nebel e McGilliard (1993), a performance reprodutiva é comprometida primeiramente pelo atraso da atividade ovariana e redução na taxa de concepção e pela demanda da alta produção de leite. O manejo pode compensar a depressão na fertilidade, porque os rebanhos de alta produção

frequentemente alcançam os menores dias em aberto. No presente trabalho esperava-se melhora nos índices reprodutivos nos animais tratados com glicerina.

TABELA 4: Valores médios dos índices reprodutivos de vacas leiteiras pré-parturientes submetidas à suplementação com glicerina.

	EPM*				Probabilidades					
	Fazenda 1		Fazenda 2		T	F	P	T*F	T*P	
	G	C	G	C						
IPS (dias)	96,7	80,1	79,3	79,5	10,7	0,52	0,44	0,13	0,47	0,39
IPC (dias)	138,8	93,3	118,1	143,9	17,2	0,63	0,43	0,04	0,07	0,55
NSC	1,87	1,86	2,13	1,75	0,48	0,74	0,89	0,90	0,74	0,31

*Erro Padrão da Média

G=glicerina; C=controle; T=tratamento; F=fazenda; P=paridade; T*F=interação tratamento e fazenda; T*P=interação tratamento e paridade; IPS=Intervalo do parto ao 1º serviço (dias); IPC=Intervalo do parto à concepção (dias); NSC=Número de serviço por concepção

Na literatura os resultados relacionados à reprodução com o uso de PG são inconsistentes e com glicerina são inexistentes. No trabalho de Laranja da Fonseca (1997) o grupo tratado com PG apresentou o primeiro cio cinco dias mais cedo em relação ao controle (40,1 X 45,1 dias respectivamente). Possivelmente o pequeno número de animais utilizados impediu a avaliação dos parâmetros reprodutivos com mais acurácia, embora as médias estejam dentro da faixa observada na maioria dos trabalhos estudados.

Contudo, diferindo do presente resultado, Formigoni et al. (1996) utilizando 19 animais no grupo controle e 20 animais no grupo tratado, com

300g de PG durante 10 dias antes do parto e nos 3, 6, 9 e 12 dias posteriores ao parto, detectaram efeito positivo do PG sobre a retomada da atividade cíclica, observada via dosagens de progesterona. A porcentagem de vacas que permaneceram acíclicas após o 96º dia pós-parto foi 30% no grupo tratado e 58% no grupo controle ($P < 0,001$).

A deficiência energética no pós-parto parece ser o principal fator a afetar a reprodução negativamente (Butler e Smith, 1989; Lucy, Staples e Michel, 1991). O trabalho de Staples, Thatcher e Clark (1990) demonstrou como o BEN afeta a performance reprodutiva pós-parto. Os animais foram classificados em grupo 1- vacas que tiveram retorno normal da atividade ovariana nos 40 primeiros pós-parto, grupo 2- o período de 40 a 60 dias e grupo 3- vacas que permaneceram em anestro ou não responderam durante os 63 dias. O grupo 3, o qual teve a maior BEN, não apresentou capacidade para consumir uma dieta muito energética, produziram menos leite e foram mais dependentes das reservas energéticas corporais para produzir leite. Como consequência, o status metabólico inibiu o restabelecimento da atividade ovariana dentro dos 63 dias pós-parto. A suplementação neste trabalho visou diminuir cetose e conseqüentemente o BEN, contudo somente ocorreu diferença na reprodução, no intervalo do parto à concepção, mais relacionados à categoria animal e manejo do que ao tratamento propriamente dito. Isto indicou que os animais possivelmente não apresentaram um quadro de cetose e ou BEN com conseqüências sobre a reprodução que pudesse ser beneficiado pelo efeito anticetogênico propiciado pela dosagem usada.

O número de animais gestantes não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,10$). Os dados deste experimento estão semelhantes aos de outros trabalhos estudados por Duffield et al., 1999, Grummer e Carrol 1991. A capacidade de fecundar e manter o embrião é afetada pelo balanço energético, sendo assim, possivelmente os animais já haviam igualado o status metabólico no momento

da fecundação, ou seja, os possíveis efeitos do tratamentos já não afetaram o evento.

TABELA 5: Porcentagem de animais gestantes até 150 dias após a data do parto, submetidos à suplementação de glicerina no período pré-parto.

TRATAMENTOS Animais gestantes até 150 dias após a data do parto			
	SIM	NÃO	TOTAL
Controle			
Nº de animais	11	10	21
Porcentagem	52,4	47,6	100
Glicerina			
Nº de animais	11	10	21
Porcentagem	52,4	47,6	100

Teste de Qui-quadrado ($P=1,00$)

O balanço energético e o perfil endócrino-metabólico são considerados pontos básicos para restabelecimento reprodutivo pós-parto (Butler e Smith, 1989; Schillo, 1992). Alternativas nutricionais vêm sendo utilizadas como forma de melhorar o desempenho reprodutivo das vacas leiteiras, tais como suplementação com gorduras (Grummer e Carrol, 1991), ionóforos (Skaar et al., 1989) e PG (Formigoni et al., 1996; Jüchem, 2000; Laranja, 1997). A ação dessas suplementações sobre a reprodução se dá sobre fatores metabólicos como insulina, IGF-1, BHBA, glicose e NEFA (Formigoni et al., 1996; Studer et al., 1993; Laranja, 1997), os quais contribuem para retomada da atividade ovariana pós-parto. Contudo, os resultados encontrados em relação à reprodução ainda são conflitantes, devido à extrema variação entre indivíduos para características reprodutivas tipicamente usadas. Um grande número de vacas é

necessário para obtenção de dados consistentes (Grummer e Carrol, 1991), o que pode não ter acontecido neste experimento.

A ação da suplementação anticetogênica sobre a reprodução ocorre de forma indireta, pois atuam nos parâmetros metabólicos como insulina, IGF-1, BHBA, glicose e NEFA (Formigoni et al., 1996; Studer et al., 1993; Laranja, 1997), os quais são parâmetros essenciais para a retomada da atividade ovariana pós-parto.

4.2. Experimento 2

A concentração de insulina plasmática foi influenciada pelo tratamento (P=0,10), tempo (P=0,04), mas não pela interação entre tratamento e tempo (P=0,37) (Tabela 6).

TABELA 6: Insulina plasmática e pH ruminal de vacas não lactantes e não gestantes, submetidas à infusão de propilenoglicol, glicerina e controle. Valores médios (*ism*) dos três períodos de infusão observando intervalos de três dias entre cada infusão.

	Tratamentos			EPM	Probabilidades			Contrastes			
	C	PG	G		T	TP	T*TP	1	2	3	4
Insulina ¹	9,6	17,9	11,1	2,2	0,10	0,04	0,37	0,13	0,06	0,06	0,06
pH ²	6,9	6,9	6,8	0,06	0,95	<0,001	0,99	0,79	0,89	0,89	0,89

*Erro Padrão da Média

C=controle, PG=propilenoglicol, G=glicerina, T=tratamento, TP=tempo de coleta após infusão dos tratamentos, T*TP=interação tratamento e tempo de coleta após tratamento, **contraste 1**= controle versus glicerina e propilenoglicol, **contraste 2** = glicerina versus propilenoglicol, **contraste 3** = controle versus glicerina e **contraste 4** = controle versus propilenoglicol (plasmática $\mu\text{UI/ml}$)¹, (ruminal)².

No presente trabalho o PG causou pico de insulina plasmática aos 90 minutos $21,6 \pm 2,8 \mu\text{UI/ml}$ após a infusão e a G foi de $13,9 \pm 2,7 \mu\text{UI/ml}$ após 60 minutos da infusão, tendendo haver diferença significativa entre os tratamentos ($P=0,10$), pois pelo contraste 3, a glicerina foi capaz de elevar a concentração de insulina plasmática quando comparada ao controle (Figura 3). Chirstensen et al. (1997) encontraram as maiores concentrações de insulina sérica aos 90 minutos após a alimentação contendo PG, havendo interação entre o tempo e o tratamento ($P<0,005$), concordando com estes achados.

Devido à significancia dos contrastes (Tabela 6), PG mostrou-se mais eficiente no aumento de insulina plasmática, estando em concordância com os resultados obtidos por Studer et al. (1993) e Chirstensen et al. (1997), porém contrastando com Formigoni et al. (1996). Estes autores citam que as diferenças podem ter acontecido pelo uso do anticoagulante que não possibilitou a determinação de glicose plasmática ou diferenças no balanço energético, uma vez que este é responsável pelas mudanças na concentração de insulina.

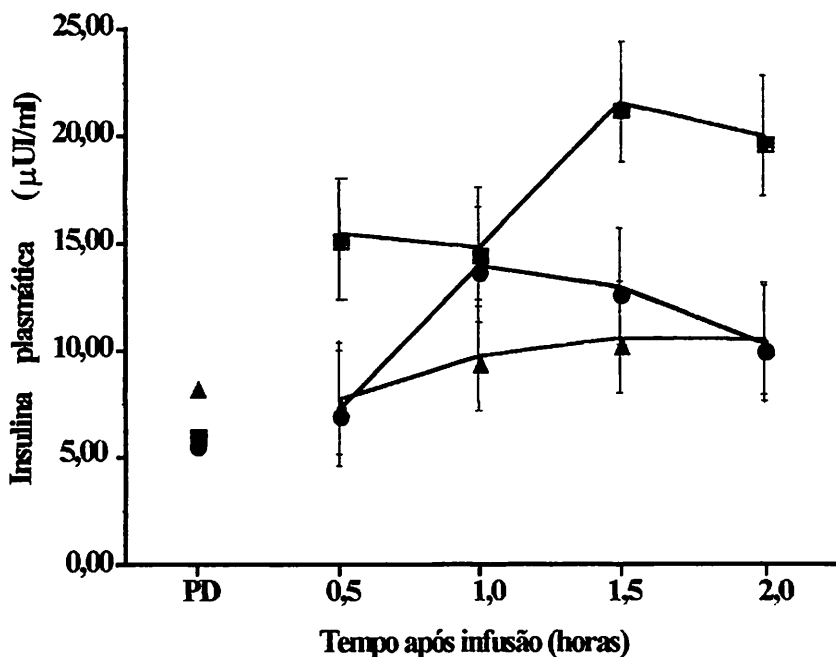


FIGURA 3: Insulina plasmática de vacas não lactantes e não gestantes com infusão de glicerina uma vez ao dia e intervalos de 3 dias entre cada infusão. (PD) padronização dos valores do tempo zero utilizados como covariável do modelo. (■) propilenoglicol, (●) glicerina e (▲) controle. ($P=0,01$ para efeito de tratamento; $P=0,04$ para efeito do tempo de coleta; $P=0,37$ para interação entre tratamento e tempo de coleta).

Segundo Studer et al. (1993), a concentração de insulina plasmática sofreu efeito significativo do tratamento ($P<0,001$) e da interação tempo e tratamento ($P<0,001$). O pico de insulina ocorreu 15 minutos após a

administração de PG, situando-se em torno de 0,260ng/ml à 1,100ng/ml. A dose de um litro de PG pode ter proporcionado este aumento, já que a dose recomendada é de 300ml de acordo com Grummer et al.(1994).

O pH ruminal aumentou nos primeiros 30 minutos após administração de PG e G, diminuindo posteriormente e retomando aos valores prévios da infusão (Figura 4).

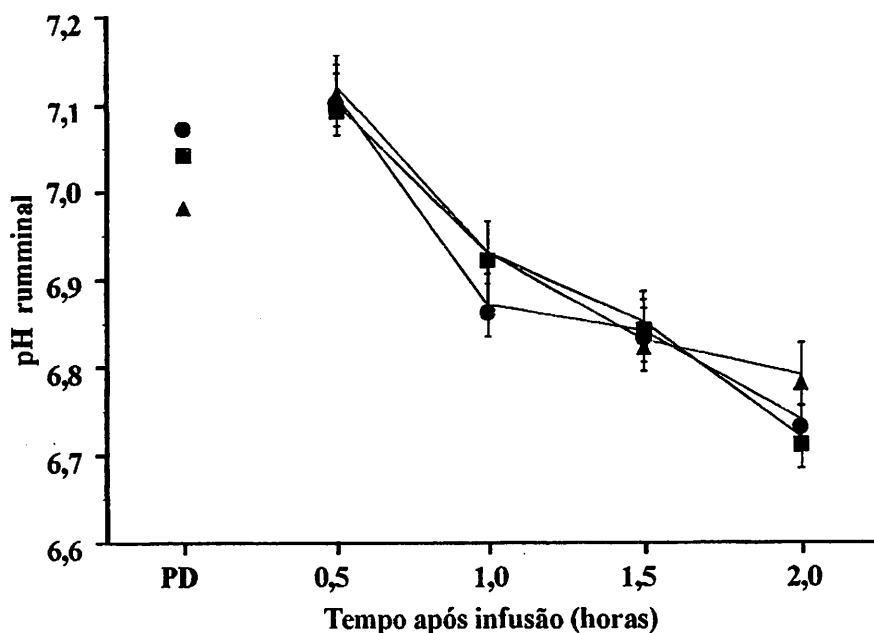


FIGURA 4: pH ruminal de vacas não lactantes e não gestantes com infusão de glicerina uma vez ao dia e intervalos de 3 dias entre infusão. (PD) valores do tempo zero utilizados como covariável do modelo. (■) propilenoglicol, (●) glicerina e (▲) controle. $P=0,95$ para efeito de tratamento; $P<0,001$ para efeito do tempo de coleta; $P=0,99$ para interação entre tratamento e tempo de coleta).

A quantidade de ambos produtos, PG e G pode ter sido insuficiente para mudança dos valores de pH, mesmo utilizando a dose recomendada por Grummer et al.(1994), porém, não é possível afirmar que tal dose tenha sido insuficiente, já que ocorreram mudanças nos valores de insulina plasmática.

Segundo Emery et al.(1964), após prolongado período de alimentação, pode ocorrer adaptação da flora ruminal para a utilização do PG, e os mesmos autores demonstraram que a meia-vida do PG no rúmen foi em torno de 1 hora, pois cerca de 99% do material administrado foram metabolizados, havendo baixos teores de PG no sangue, urina e no leite. Portanto, os valores encontrados para insulina plasmática, possivelmente, tenham sido oriundos do propionato ruminal. Por outro lado, Sauer et al. (1973) encontraram alterações na proporção de AGV no rúmen, o que pode explicar a ação gliconeogênica e anticetogênica como foi determinado previamente por Fisher et al. (1973), porque a ação principal é provavelmente sobre o metabolismo hepático. Sendo assim, as alterações sobre a concentração de insulina plasmática reflete o efeito indireto do PG e G, provavelmente não houve tempo suficiente para adaptação. Os resultados não permitem concluir definitivamente se o aumento da insulina se deveu ao aumento do propionato ou da glicose.

A queda do pH ruminal foi proporcionalmente inversa à insulina plasmática. Segundo Pereira (1997), citado por Resende Júnior (1999), a queda brusca e linear do pH, acompanhada em proporção inversa pela insulina, provavelmente refletiu a alta concentração de AGV resultante da fermentação da maior quantidade de carboidratos fermentáveis ingeridos de uma só vez. No trabalho de Resende Júnior (1999), o fornecimento de concentrado 4 vezes ao dia foi aparentemente mais eficiente na manutenção de condições constantes de fermentação ruminal, associados a níveis constantes de insulina plasmática. Neste trabalho, o comportamento do PG e G em relação ao aumento da concentração de insulina foi semelhante à do presente experimento, como

demonstrado pelo metabolismo dos carboidratos, em que os valores médios para insulina plasmática foram $11,8 \pm 1,8$ e $13,6 \pm 1,8$ $\mu\text{UI/ml}$ para o fornecimento de concentrado 1 vez e 4 vezes ao dia, respectivamente.

Grummer et al.(1994), avaliando doses crescentes de PG, relataram que a produção de acetato e propionato ruminal decresceu com o aumento da dose, atingindo a maior produção de propionato (33.5 moles/ 100 mol) com a dose de 296ml/dia. Chirstensen et al. (1997) também observaram que o propionato atingiu pico de 25.4 moles/100 mol, quando PG foi administrado através do *drench* de 300ml/dia ou misturado ao concentrado. Contudo, há necessidade do estudo do perfil de fermentação da glicerina para conclusão dos dados atuais.

5.CONCLUSÕES

A suplementação de glicerina, antes do parto influencia a produção de leite. As primíparas apresentaram menor resposta ao efeito da glicerina do que as múltíparas.

A dose de G influenciou parcialmente os índices reprodutivos, visto que somente a taxa de concepção foi alterada pela suplementação. Conclui-se que a resposta ao desempenho produtivo e reprodutivo em relação ao tratamento, pode-se dar em função do potencial individual do animal e do manejo aplicado ao rebanho.

A infusão de PG e G diretamente no rúmen de vacas fistuladas não influenciou o pH ruminal, porém, aumentou a concentração plasmática de insulina, tendo como destaque o desempenho do PG.

Apesar da comprovação do PG demonstrada no experimento 2 em relação ao aumento da concentração sanguínea de insulina, a G possivelmente seja uma suplementação viável economicamente e eficaz para as vacas pré-parturientes já que, de acordo com os resultados apresentados no experimento 1, ocorreu aumento na produção de leite.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMENTANO, E.L.; GRUMMER, R.R.; BERTICS, S.J.; SKAAR, T.C.; DONKIN, S.S. Effects of energy balance on hepatic capacity for oleate and propionate metabolism and triglyceride secretion. **Journal Dairy of Science**, Champaign, v. 74, n.1, p. 132-139, Jan.1991.
- BAHAA, A.O.; MURPHY, M.R.; MORIN, D.E.; SPAHR, S.L.; DRACKLEY, J.K.; EL-NEWEEHY, T.K.; Abd El-SAMEE, A.A. Induction of ketosis by feed restriction and treatment of with glucose or propylene glycol. **Journal Dairy of Science**, Champaign, v.80 (Suppl.1): 166 (Abstr), June,1997.
- BAIRD, G.D. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.65, n. 1, p.1-10, Jan.1982.
- BELL, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.10, p.2804-2819, Oct. 1995.
- BERTICS, S.J.; GRUMMER, R.R.; VALINO, C.C.; STODARD, E.E. Effect of prepartum matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v 75, n.7, p.1914-1922, Jul.1992.
- BRASIL. Secretária Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório nacional de referência animal . **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II. Métodos físicos e químicos**. Brasília, 1981.
- BRINDLE, N.P.J.; ZAMMIT, V.A.; POGSON, C.I. Regulation of carnitine palmitoltransferase activity by malonil-CoA in mitochondria from sheep liver, a tissue with low capacity for fatty acid synthesis. **Biochemical. Journal**. London, n.1, 232: 177-182, Nov.1985.
- BROCKMAN, R.P.; LAARVELD, B. Hormonal regulation of metabolism in ruminants: A review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, n.4, p.313-334, June,1986.

- BUTLER, W.R., SMITH, R.D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.3, p.767-783, Mar.1989.
- CANFIELD, R.W.; BUTLER, W.R. Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.69, n.2, p.740-746, Feb.1991.
- CHEW, B.P.; ERB, R.E.; FESSLER, J.F.; CALLAHAN, C.J.; MALVEN, P.V. Effects of ovariectomy during pregnancy and of prematurely induced parturition on progesterone, estrogens, and calving traits. **Journal of Dairy Science**, v.62, n.4, p.557-566, April, 1979.
- CHRISTENSEN, J.O.; GRUMMER, R.R.; RASMUSSEN, F.E.; BERTICS, S.J. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v 80, n.3, p.563-568, Mar.1997.
- DEUTILLEUX, J.C.; GRÖNH, Y.Y.; QUAAS, R.L. Effects of clinical ketosis on test day milk yields in Finnish Ayrshire Cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, n.11, p.3316-3323, Nov.1994.
- DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.11, p. 2259-2273, Nov. 1999.
- DRACKLEY, J.K.; BEITZ, D.C.; YOUNG, J.W. Regulation of In Vitro metabolism of palmitate by carnitine and propionate in liver from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n.9, p.3014-3024, Sep. 1991.
- DRACKLEY, J.K.; VEENHUIZEN, J.J.; RICHARD, M.J.; YOUNG, J.W. Metabolic changes in blood and liver of dairy cows during either feed restriction or administration of 1,3-butanediol. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n.12, p.4254-4264, Dec.1991.
- DRACKLEY, J.K.; OVERTON, T.R.; DOUGLAS, N.G.; Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, E. Suppl., p.100-112, 2001.

- DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E.; SANDALS, D. LISSEMORE, K.; McBRIDE, B.W.; LUMSDEN, J.H.; DICK, P.; BAGG, R. Effect of a momensin-controlled release capsule on cow health and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.11, p.2377-2384, Nov.1999.
- EDGERTON, L.A.; HALFS, H.D. Serum luteinizing hormone, prolactin, glucocorticoid, and progesterin in dairy cows from calving to gestation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.56, n.4, p.451-458, Apr. 1973.
- EMERGY, R.S.; BURG, N.; BROWN, L.D.; BLANK, S.N. Detection, occurrence and prophylactic treatment of borderline ketosis with propylene glycol feeding. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 47, n.10, p.1074-1079, Oct.1964.
- ESTIENNE, M.J.; SCHILLO, K.K.; GREEN, M.A.; BOLING, J.A. Free fatty acid suppress growth hormone, but not luteinizing hormone secretion in the sheep. **Endocrinology**, 125: 85, 1989.
- FISHER, L. J.; ERFLE, G. A.; LODGE, G.A.; SAUER, F. D. Effect of propylene glycol or glycerol supplementation of the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. **Can. Journal of Animal Science**, Champaign, v 53, n. 6, p. 289-296, June, 1973.
- FORMIGONI, A.; CORNIL, M.C.; PRANDI, A.; MORDENTI, A.; ROSSI, A.; PORTETELLE, D.; RENAUVILLE, R. Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.63, n.1, p.11-24, Feb. 1996.
- FRONK, T.J.; SCHULTZ, L.H.; HARDIE, A.R. Effect of dry period overconditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.63, n.7, p.1080-1090, July,1980.
- GEISHAUSER, T.; LESLIE, K.; TENHAG, J.; BASHIRI, A. Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.2, p.296-299, Feb.2000.

- GOFF, J.P.; HORST, J.P. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n. 7, p. 1260-1268, July, 1997.
- GRUMMER, R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 12, p-3882-3896, Dec.1993.
- GRUMMER, R.; CARROL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n.9, p. 3838-3852, Sept.1991.
- GRUMMER, R.R.; WINKLER, J.C.; BERTICS, S.J.; STUDER, V.A. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. **Journal Dairy of Science**, Savoy, v 77, n. 12, p. 3618-3623, Dec.1994.
- GRUMMER, R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v 73, n.9, p. 2820-2833, Sept.1995.
- GUSTAFSSON, A.H.; ANDESSON, L.; EMANUELSON, U. Effect of hyperketonaemia, feeding frequency and intake of concentrate and energy on milk yield in dairy cows. **Animal Production**, London, v.56, n.1, p.51-60, Feb.1993.
- HARMON, D.L. Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n.4, p. 1290-1301, Apr.1992.
- HARRISON, R.O.; FORD, S.P.; YOUNG, J.W.; CONCLEY, A.J.; FREEMAN, A.E. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n.10, p.2749-2757, Oct. 1990.
- HILEMAN, S.M.; SCHILLO, K.K.; KEARNAN, J.M.; HALL, J.B.; MOHAPATRA, S. Effects of metabolic fuel restriction LH and GH in ovariectomized lambs. **Biology Reproduction**, Champaign, v.44, (Suppl.1):87.1991.
- HOLTENIUS, P. Hormonal regulation related to the development of fatty liver and ketosis. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Kobenhavn Suppl.89, p.55-60. July, 1993.

HOOVEN, N.W.; PLOWAN, R.D.; SMITH, J.W.; The efficacy of feeding propylene glycol to reduce the incidence and severity of ketosis. **Journal Dairy of Science**, Champaign, 52: 915 (Abstr.), 1969.

JÜCHEM, S.F. Suplementação de propilenoglicol e monensina sódica para vacas no período de transição. Piracicaba, USP, 2000.99p.(Resumo de Tese de Mestrado em Agronomia) internet

KAUPPIEN, K. Prevalence of bovine ketosis in relation to number and stage of lactation. **Acta Veterinary Scandinavica**, v. 24, p. 349-361, 1983.

KUNZ, P.L.; BLUM, J.W.; HART, I.C.; BIECK, H.; LANDIS, J. Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. **Animal Production**, London, v.40, n.2, p.219-231, Apr. 1985.

LAGO, E.P. Avaliação da incidência de cetose em vacas leiteiras. Tese de Mestrado- Ciência Animal e Pastagem. ESALQ/USP.Piracicaba. p.88.Fevereiro/1997.

LARANJA DA FONSECA, L.F. Suplementação de propilenoglicol para vacas leiteiras periparturientes: efeito sobre metabolismo, condição corporal, produção e reprodução. São Paulo, 1997, 110p. Tese Doutorado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

LITTEL, R.C.; MILLKEN, G.A; STROUP, W.W.; WOLFINGER, R.D.; SAS®System for Mixed Models. SAS Institute Inc, Cary, NC. 1996. 633p.

MAGALHÃES, A.C.M.; BELÉM, P.A.D. Estudo preliminar sobre a ocorrência de cetose subclínica em rebanho leiteiro. 7º Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Anais, 1995.Belo Horizonte-UFGM.

McGARRY, J.D.; FOSTER, D.W. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. **Annual Review Biochemistry**, Palo Alto, 49:p.395-420, 1980.

MOE, P.W.; TYRREL, H. F. Metabolize energy requirements of pregnant dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v 55, n. 4, p. 480-488, Apr. 1972.

- McNAMARA, J.P.; HILLERS, J.K. Adaptations in lipid metabolism of bovine adipose tissue in lactogenesis and lactation. **Journal Lipid Research**, Bethesda, v.27, n.2, p.150-157, Feb. 1986.
- NEBEL, R.L.; MCGILLIARD, M.L. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n.10, p.3257-3268, Oct. 1993.
- PEREIRA, M.N. Responses of lactating cows to dietary fiber from alfalfa or cereal byproducts. Madison: University of Wisconsin, 1997. 186p. (Ph.D.-Thesis- Animal Nutrition).
- RESENDE JÚNIOR, J.C. Efeito da frequência de alimentação concentrada sobre a morfologia das papilas do rúmen. Lavras, 1999, 67p. Dissertação (Mestrado). Departamento de Zootecnia –UFLA.
- SAKAI, T.; HAYAKAWA, T.; HAMAKAWA, M.; OGURA, K.; KUBO, S. Therapeutic effects of simultaneous use of glucose and insulin in ketotic dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n.1, p.109-114, Jan. 1993.
- SAUER, F. D.; ERFLE, J. D.; FISHER, L. J. Propylene glycol and glycerol as a feed additive for lactating dairy cows: an evaluation of blood metabolite parameters. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v 53, n.2, p. 265-271, Jun. 1973.
- SAS Institute. *SAS/STAT User's guide*. Version 6.12. 4. ed. Cary, 1995. v.2, 1686p.
- SCHILLO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n.4, p.1271-1282, Apr. 1992.
- SKAAR, T.C.; GRUMMER, R.; DENTINE, M.R.; STAUFFACHER, R. H. Seasonal effects of prepartum and postpartum fat and niacin feeding on lactation performance and lipid metabolism. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n. 8, p.2028-2038, Aug.1989.
- SPICER, L.J.; TUCKER, W. B.; ADMS, G.D. Insulin-Like Growth Factor-I in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrus behavior. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.4, p.929-937, Apr.1990.

- STAPLES, C.R.; THACHER, W.W.; CLARK, J.H. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 73, n. 73, p.938-947, Apr.1990.
- STELWAGEN, K.; GRIEVE, D.G.; McBRIDE, B.W.; REHMAN, J.D. Growth and subsequent lactation in primigravid Holsteins heifers after prepartum bovine somatotropin treatment. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.75, n.2, p.463-471, Feb.1992.
- STODDARD, G.E. How fat-corrected milk originated. *Hoard's Dairyman*, Fort Atkinson, v.10, p.319, 1980.
- STUDER, V. A.; GRUMMER, R.R.; BERTICS, S.J.; Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Savoy, v 76, n.10, p. 2931-2939, Oct.1993.
- SCHUTZ, L.H. Cap. Problemas metabólicos relacionados com nutrição: febre do leite, cetose e síndrome da vaca gorda. In: CHURCH, D.C. (ed.) *El Rumiante Fisiología Digestiva y Nutricion*, Zaragoza: Acribia, 1993. Cap. 24, p- 493.
- TVEIT, B.; LINGAAS, F.; SVENDEN, M.; SJAASTAD, O.V. Etiology a acetomia in Norwegian Cattle. 1.Effect of ketogenic silage, season, energy level, and genetic factors. . *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 75, p.2421-2432, 1992.
- TYRREL, H. F.; REID, J.T. Prediction of the energy value of cow's milk. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.48, n.9, p.1215-1223, Sept. 1965.
- VASQUEZ-AÑÓN, M.; BERTICS,S.; LUCK, M.; GRUMMER, R.; PINHEIRO, J. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 77, n.6, p.1521-1528, June, 1994.
- VEENHUIZEN, J.J.; DRACKLEY, J.K.; RICHARD, M.J.; SANDERSON, T.P.; MILLER,L.D.; YOUNG, J.W. Metabolic changes in blood and liver during development nad early treatment of experiment fatty liver and ketosis in cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.74, n.12, p.4238-4253, Dec. 1991.

- VILLA-GODOY, A.; HUGHES, T.L.; EMERGY, R.S.; FOGWELL, R.L. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n. 4, p.1063-1072, Apr. 1988.
- WALDO, D.R.; SCHULTZ, L. H. Blood and rumen changes following the intraruminal administration of glycogenic materials. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 43, n.4, p. 496-505, Apr. 1960.
- ZAMMIT, V.A. Ketogenesis in the liver of ruminants-adaptations to a challenge. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, 115, p.155-162, 1990.

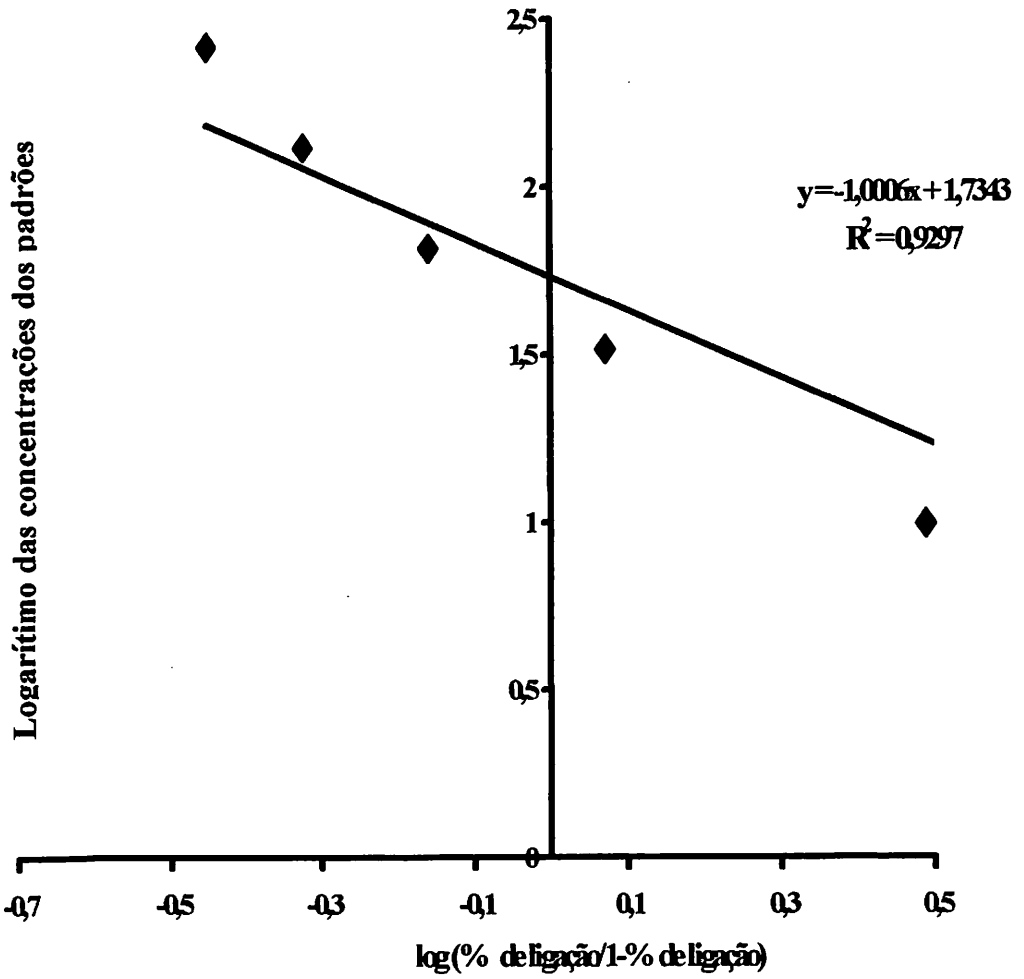
VILLA-GODOY, A.; HUGHES, T.L.; EMERGY, R.S.; FOGWELL, R.L.
Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n. 4, p.1063-1072, Apr. 1988.

WALDO, D.R.; SCHULTZ, L. H. Blood and rumen changes following the intraruminal administration of glycogenic materials. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 43, n.4, p. 496-505, Apr. 1960.

ZAMMIT, V.A. Ketogenesis in the liver of ruminants-adaptations to a challenge. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, 115, p.155-162, 1990.

APÊNDICE

Ensaio 1



Ensaio 2

